



**Universidade de Aveiro** Departamento de Ambiente e Ordenamento

**Ano 2009**

**Cláudia Cordeiro Isidoro   Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros**



**Cláudia Cordeiro Isidoro   Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais, Professora Auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, e co-orientação da Professora Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela, Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**o júri**

presidente

**Prof. Doutor Luís Manuel Guerreiro Alves Arroja**

Professor Associado do Dep. de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**Prof. Doutor Cheng Chia-Yau**

Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

**Prof. Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadaís**

Professora Auxiliar do Dep. de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela**

Professora Associada do Dep. de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

Quero aqui expressar os meus sinceros agradecimentos a todos que directa ou indirectamente, colaboraram para a concretização deste trabalho.

Agradeço à Professora Doutora Helena Nadais pela orientação, sugestões, incentivo e conhecimentos transmitidos durante a elaboração desta tese e agradeço também à co-orientadora, Professora Doutora Isabel Capela.

A todos os colegas que me acompanharam no laboratório do DAO, à Marta, à Cláudia, ao Filipe Santos e ao Flávio Silva agradeço a camaradagem, ajuda, o saber partilhado e a boa disposição.

A todos os meus amigos pelo apoio e força que me transmitiram, um especial à Rejane e em especial à Bruna, que esteve sempre presente em todos os momentos e foi grande fonte de boa disposição e força nos momentos mais difíceis.

Um agradecimento muito especial ao Luís pela compreensão, força e apoio que sempre demonstrou, em especial durante este longo período de tese.

Por último e não menos especial, um grande obrigada ao meu irmão e aos meus pais por toda a confiança, incentivo e apoio ao longo de todo o meu percurso escolar e a sua compreensão pelas minhas prolongadas ausências nestes últimos meses de tese.

**palavras-chave**

Fermentação acidogénica; digestão anaeróbia; biopolímeros; polihidroxicanoatos (PHAs); biopolímeros; formação de ácidos orgânicos voláteis (AOV's).

**resumo**

A temática deste trabalho está associada à dependência actual de combustíveis fósseis para a produção de plásticos, à falta de locais para a sua deposição e às crescentes preocupações ambientais relativas a plásticos não-degradáveis, que têm resultado na investigação e desenvolvimento de materiais biopoliméricos amigos do ambiente. Com este trabalho impõem-se também a questão da problemática ambiental da deposição de matéria orgânica em aterro, que actualmente é proibida pela Directiva Aterros.

O principal objectivo deste trabalho foi a optimização da fermentação acidogénica de um efluente de lamas gordas de uma indústria de lacticínios. Possibilitando que este tipo de efluentes, que constituem fontes de poluição, seja aproveitado como matéria-prima, especialmente na produção de biopolímeros. Neste sentido os produtos de acidogénese, designadamente, os ácidos orgânicos voláteis (AOV's) são ilustrados como substratos para a produção de polihidroxicanoatos (PHAs).

Neste sentido foram montados dois reactores acidogénicos descontínuos, sendo um deles alcalino (R1) e o outro (R2) apresentava um pH igual ao das lamas gordas utilizadas,  $\text{pH} \approx 5$ . Ambos os reactores foram submetidos a uma matriz experimental de cargas orgânicas crescentes de 5 gCQO/L a 30 gCQO/L, numa temperatura mesofílica (37°C). Outros dois reactores foram também operados com as mesmas condições mas para uma temperatura termofílica (55°C), sendo submetidos apenas a duas cargas orgânicas (10 gCQO/L e 30 gCQO/L).

A carga orgânica é uma condição operacional que se reflecte na produção de ácidos orgânicos voláteis (AOV's). Para a temperatura mesofílica verifica-se um aumento da produção de AOV's, com o aumento de carga, apresentando a carga de 5 gCQO/L uma concentração total de AOV's de 300 mgAc/L e a carga de 30 gCQO/L uma concentração de 5300 mgAc/L. Em contrapartida para a temperatura termofílica a produção de AOV's não varia significativamente com o aumento de carga de 10 gCQO/L para 30 gCQO/L, apresentando uma concentração total de AOV's de 1000 mgAc/L em ambas as cargas orgânicas.

A influência da temperatura reflecte-se na composição dos AOV's presentes ao longo da fermentação acidogénica, apresentando ambas as temperaturas o ácido acético e o propiónico como AOV's predominantes. O aumento da temperatura de 37°C para 55°C favorece a presença do ácido isovalérico e n-butírico.

O efeito da alcalinidade denota-se com o aumento da produção de AOV's para a temperatura de 37°C, evidenciando-se para a carga de 30 gCQO/L. Para a temperatura de 55°C não é observado o efeito da alcalinidade para ambas as cargas orgânicas aplicadas.

Estes resultados são indicadores de que a fermentação acidogénica de lamas gordas de uma indústria de lacticínios, apresentam potencialidades para a formação de substratos para a produção de biopolímeros, devendo no futuro ser mais bem estudadas.

**keywords**

Acidogenic fermentation; digestion anaerobic; biopolymers; polyhydroxyalkanoates (PHAs); formation of volatile fatty acids (VFA's).

**abstract**

The theme of this thesis is associated with the current dependence on fossil fuel for plastic production, the lack of places for its deposition and the growing environmental worries about non-degradable plastics which has resulted in investigation and development of environmental friendly biopolymeric. This essay also imposes the environmental question of the deposition of organic substance in sanitary landfill, which nowadays is forbidden by the Landfill Directive.

The main objective of this essay was to optimize the acidogenic fermentation of a fatty sludge belonging to a dairy industry, making sure that this type of effluents, that are a pollution source, are used as raw material, especially in the biopolymers production. In this sense the acidogenesis products, specially the volatile fatty acids (VFA's), are illustrated as substrates for the production of polyhydroxyalkanoates (PHAs).

For such an evaluation two discontinuous acidogenic reactors, one alkaline (R1) and another (R2) with pH the same as the fatty sludge used  $\text{pH} \approx 5$  were assembled,. Both reactors were submitted to an, experimental design of organic loading rate, increasing from 5 gCOD/L to 30 gCOD/L, in a mesophilic range ( $37^{\circ}\text{C}$ ). Other two reactors were also operated under the same conditions but for a thermophilic range ( $55^{\circ}\text{C}$ ), being just submitted to two organic loadings (10 gCOD/L and 30 gCOD/L).

The organic load is an operational condition that reflects itself on the production of volatile fatty acids (VFA's). At the mesophilic temperature an increasing of the VFA's production occurs, with the increasing of organic loading, the load 5 gCOD/L presenting a total concentration of VFA's of 300 mgAc/L and the load 30 gCOD/L presenting a concentration of 5300 mgAc/L. However for the thermophilic temperature the VFA's production does not significantly change with the organic loading increase from 10 gCOD/L to 30 gCOD/L.

The influence of temperature shows in the VFA's composition, throughout the acidogenic fermentation, showing both temperatures acetic acid and propionic acid as predominant VFA's. The increase of temperature from 37 ° C to 55 ° C promote the presence of butyric acid and valeric acid.

The Alkalinity effect shows with the increase of the VFA's production at 37°C, and enhances with the load of 30 gCOD/L. For the thermophilic temperature the effect of alkalinity is not observed in both organic loading rate.

As a conclusion, these results point out that acidogenic fermentation of fatty sludge belonging to a dairy industry, has potential for substrates formation to the production of biopolymers and should be more and better explored in the future.



## Índice geral

<b>Índice de Figuras.....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice de Tabelas .....</b>	<b>v</b>
<b>Lista de abreviaturas .....</b>	<b>vii</b>
<b>1 Biopolímeros .....</b>	<b>1</b>
1.1 Introdução.....	1
1.2 Polímeros .....	3
1.2.1 Origem.....	4
1.2.2 Classificação e características dos polímeros .....	5
1.3 A problemática dos polímeros .....	8
1.4 Biopolímeros.....	11
1.4.1 Classificação dos biopolímeros .....	12
1.4.2 Polihidroxialcanoatos (PHAs) .....	13
<b>2 Efluentes de indústrias de lacticínios .....</b>	<b>17</b>
2.1 Indústrias de lacticínios .....	17
2.2 Efluentes de indústrias de lacticínios .....	22
2.1 Indústrias de lacticínios em Portugal.....	26
<b>3 Acidogénese como etapa da digestão anaeróbia .....</b>	<b>27</b>
3.1 Microbiologia e bioquímica do processo de digestão anaeróbia.....	27
3.2 Influência de factores ambientais na acidogénese.....	30
3.2.1 Temperatura.....	31
3.2.2 pH e alcalinidade .....	32
3.2.3 Nutrientes .....	33
3.3 Aplicabilidade da fase acidogénica .....	34
3.3.1 Acidogénese na produção de polihidroxialcanoatos (bioplásticos) .....	36
<b>4 Objectivo da tese.....</b>	<b>39</b>
<b>5 Realização experimental.....</b>	<b>41</b>
5.1 Descrição da montagem experimental.....	41
5.2 Condições de arranque e operação dos reactores .....	42
5.3 Monitorização da operação dos reactores.....	45
5.4 Parâmetros de controlo .....	45

5.4.1	Ácidos orgânicos voláteis (AOV's) .....	46
5.4.2	Composição do biogás .....	47
5.4.3	Carência Química de Oxigênio (CQO) .....	49
5.4.4	Sólidos.....	50
5.4.5	pH .....	51
5.5	Caracterização do substrato em estudo.....	51
<b>6</b>	<b>Resultados e discussão .....</b>	<b>53</b>
6.1	Resultados experimentais da gama mesofílica.....	53
6.1.1	1º Ensaio.....	53
6.1.2	2º Ensaio.....	55
6.1.3	3º Ensaio.....	58
6.1.4	4º Ensaio.....	61
6.1.5	5º Ensaio.....	64
6.2	Resultados experimentais da gama termofílica.....	67
6.2.1	6º Ensaio.....	67
6.2.1	7º Ensaio.....	70
6.3	Discussão dos resultados .....	74
<b>7</b>	<b>Conclusões e sugestões.....</b>	<b>83</b>
	<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>85</b>
	<b>Anexos .....</b>	<b>93</b>
	Anexo I – Classificação dos polímeros .....	95
	Anexo II – Conversão de CH <sub>4</sub> em CQO .....	99
	Anexo III – Conversão dos AOV's em CQO .....	101

## Índice de Figuras

Figura 1 – Consumo de plástico por sector em 2007 (Fonte: Plastics Europe). .....	4
Figura 2 – Classificação dos plásticos segundo a sua origem. ....	6
Figura 3 – Classificação dos biopolímeros segundo a sua origem.....	13
Figura 4 – Estrutura geral dos polihidroxialcanoatos (PHAs). ....	14
Figura 5 – Estrutura do copolímero poli(3-hidroxibutirato) e copolímero poli(3-hidroxivalerato). ..	15
Figura 6 – Sistemas de tratamento biológico a) em uma e b) em duas fases.....	24
Figura 7 – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de O’Flaherty et al., 2006). .....	28
Figura 8 - Representação esquemática da instalação laboratorial.....	41
Figura 9 – Imagem do reactor usado. ....	42
Figura 10 – Imagem da instalação experimental. ....	42
Figura 11 – Cromatógrafo utilizado na análise dos AOV’s. ....	46
Figura 12 – Exemplo de um cromatograma obtido na análise de uma amostra de AOV’s. ....	47
Figura 13 – Cromatógrafo gasoso com detector de condutividade térmica (TCD). ....	48
Figura 14 – Exemplo de um cromatograma obtido na análise de uma amostra de biogás. ....	49
Figura 15 – Aparelhos utilizados para a determinação de sólidos, a) Estufa, b) Mufla. ....	51
Figura 16 – Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=°37°C. ....	54
Figura 17 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=°37°C.....	56
Figura 18 - Evolução da concentração de AOV’s no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=°37°C.....	56
Figura 19 – Evolução da concentração de AOV’s no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=°37°C.....	57
Figura 20 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°37°C.....	59
Figura 21 - Concentração de AOV’s no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°37°C. ....	59
Figura 22 - Concentração de AOV’s no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°37°C. ....	60
Figura 23 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e T=°37°C.....	62
Figura 24 - Concentração de AOV’s no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e T=°37°C. ....	62

Figura 25 - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e T=°37°C. ....	63
Figura 26 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°37°C.....	65
Figura 27 - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°37°C. ....	65
Figura 28 - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°37°C. ....	66
Figura 29 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°55°C.....	68
Figura 30 - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°55°C. ....	69
Figura 31 - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°55°C. ....	69
Figura 32 - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°55°C.....	71
Figura 33 - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°55°C. ....	72
Figura 34 - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=°55°C. ....	72
Figura 35 – Produção total de metano no reactor R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C.....	74
Figura 36 – Conversão de CQO a metano para o reactor R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C.....	74
Figura 37 – Conversão de CQO a AOV's ao longo de cada ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 37 e 55°C. ....	76
Figura 38 – Conversão global de COQ a AOV's no fim de cada ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C.....	77
Figura 39 – Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 37 e 55°C. ....	79

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Homopolímeros e copolímeros.....	5
Tabela 2 – Comparação das três categorias de polímeros (Esgalhado e Rocha, 2002).....	8
Tabela 3 - Constituintes do leite de várias espécies de mamíferos, valores médios em percentagem ponderal (adaptado de Hui, 1992 e de Kirk-Othmer, 1995). ....	17
Tabela 4 - Composição dos lípidos do leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).....	18
Tabela 5 - Ácidos gordos no leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995). ....	19
Tabela 6 - Ácidos gordos saturados como percentagem de ácidos totais na gordura do leite vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995). ....	19
Tabela 7 - Ácidos gordos insaturados como percentagem dos ácidos gordos totais na gordura do leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995). ....	20
Tabela 8 - Plano do trabalho experimental. ....	43
Tabela 9 - Teor médio de microrganismos em cada reactor no início do 4º ensaio. ....	44
Tabela 10 - Composição das soluções de nutrientes. ....	44
Tabela 11 – Plano de monitorização de cada reactor. ....	45
Tabela 12 – Características de operação do cromatógrafo gás-líquido. ....	46
Tabela 13 – Condições de operação do cromatógrafo gasoso. ....	48
Tabela 14 - Características das lamas de DAF geradas na instalação industrial de Vale de Cambra. ....	52
Tabela 15 - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas no ensaio 1.....	53
Tabela 16 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 1 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade). ....	54
Tabela 17 – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 2. ....	55
Tabela 18 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 2 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade). ....	55
Tabela 19 – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 3. ....	58
Tabela 20 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 3 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade). ....	58
Tabela 21 – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 4. ....	61
Tabela 22 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 4 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade). ....	61
Tabela 23 – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 5. ....	64
Tabela 24 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 5 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade). ....	64

Tabela 25 - Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 6.....	67
Tabela 26 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 6 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).....	67
Tabela 27 - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas no ensaio 7.....	70
Tabela 28 - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 7 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).....	70
Tabela 29 – Classificação de polímeros quanto à estrutura molecular (Lucas et al, 2001.).....	96
Tabela 30 – Tabela resumo da conversão dos AOV's em CQO.....	102

## Lista de abreviaturas

AOVs	- Ácidos Orgânicos Voláteis
CQO	- Carência Química de Oxigénio
CQOs	- Carência Química de Oxigénio solúvel
CQOt	- Carência Química de Oxigénio total
et al.	- e outros (do latim : et alia)
GC	- Cromatografia gasosa
OG	- Óleos e gorduras
PHA	- Polihidroxialcanoato
PHB	- Polihidroxibutirato
Sol. ã acid.	- Solúvel não acidificado
SST	- Sólidos Suspensos Totais
SSV	- Sólidos Suspensos Voláteis
Vol acunl	- Volume acumulado
Vol.	- Volume

---

### NOTAS:

1. Por uma questão de legibilidade, a letra que é usada para designar a unidade volumétrica *litro*, o convencional l, foi substituído por L.
2. As unidades da Carência Química de Oxigénio, que, em rigor, devem ser mgO<sub>2</sub>/L ou gO<sub>2</sub>/L são substituídas por mg/L ou g/L ou mesmo por mgCQO/L ou gCQO/L.

# 1 BIOPOLÍMEROS

## 1.1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos o Homem tem retirado da natureza os elementos essenciais à sua existência, bem como uma série de produtos que são utilizados a fim de garantir o seu conforto e também a melhoria da sua qualidade de vida. Apercebendo-se da abundância de matérias-primas e dos diversos produtos disponíveis, que muitas vezes podem ser sintetizados, explorou-a em nome do seu bem-estar e desenvolvimento.

Os polímeros, vulgarmente conhecidos como plásticos<sup>2</sup>, constituem uma das bases desse desenvolvimento, sendo um dos materiais mais utilizados hoje em dia pelo homem. Desde o início do século XX que os polímeros têm um papel fundamental na sociedade moderna, apresentando vantagens relativas a outros materiais quanto a custo, conveniência, moldagem, praticabilidade e propriedades físicas e químicas, entre outras (Ojumu *et al.*, 2004).

Ao longo dos últimos anos, em consequência de uma progressiva compreensão das relações existentes entre a estrutura e as propriedades dos polímeros, bem como do aparecimento de novas técnicas de fabrico, sintetizam-se produtos com características previamente estabelecidas. O uso de polímeros torna-se cada vez mais frequente na sociedade sendo utilizados de inúmeras formas, inclusive em algumas aplicações para as quais anteriormente eram usados outros materiais, tais como metais, vidro madeira, papel. Sendo também usados em aplicações industriais, domésticas e ambientais, desde garrafas, embalagens, sacos de supermercado, latas de conserva, tintas, passando pelos cobertores, tapetes, escovas de dentes, pneus ou suportes para componentes eléctricos, os polímeros encontram-se presentes em quase a totalidade dos utensílios de uso quotidiano (Coutinho *et al.*, 2004; Santos & Martins, 2004; Squio & Araújo, 2004).

Os polímeros sintéticos começaram por ser considerados o material ideal, tecnicamente perfeitos. No entanto, ao longo dos anos têm despertado uma elevada preocupação, pelo facto de serem rapidamente rejeitáveis, pela sua grande dificuldade de degradação no meio

---

<sup>2</sup> Do grego “Plástikós”, relativo a obras de barro, pelo latim “Plasticu”, relativo à modelação. (Porto editora multimédia, 2002)



ambiente e pelo facto de serem sinteticamente derivados do petróleo. Grande parte dos produtos plásticos usados acaba acumulada no meio ambiente ou então em aterros, devido ao seu elevado tempo de degradação, que para além de prejudicar a normal circulação de gases e líquidos, compromete também o processo de decomposição dos demais materiais neles depositados (Lee, 1996; Kumar *et al.*, 2004).

Ao longo dos tempos foram-se desenvolvendo alternativas para uma melhor gestão deste de resíduo, entre elas encontra a reciclagem, a incineração e, mais recentemente, a produção e utilização de plásticos biodegradáveis, que são vistos como uma futura alternativa ecologicamente útil para os plásticos (Kumar *et al.*, 2004; Ojumu *et al.*, 2004).

Nas últimas duas décadas houve um crescente interesse público e científico no que diz respeito ao uso e desenvolvimento de biopolímeros (plásticos biodegradáveis), chegando mesmo a serem desenvolvidos com sucesso de forma a garantir exigências específicas de vários domínios e indústrias. Para além de possuírem as tão desejadas propriedades físicas e químicas dos convencionais plásticos sintéticos, são obtidos a partir de fontes renováveis (Kumar *et al.*, 2004; Ojumu *et al.*, 2004).

Os biopolímeros são, na sua maioria, poliésteres biodegradáveis, ou seja, polihidroxialcanoatos (PHAs), poliésteres alifáticos, polissacarídeos, copolímeros ou misturas destes. Os PHAs além da vantagem de serem biodegradáveis, apresentam ainda outras características importantes, são biocompatíveis, produzidos a partir de recursos renováveis, possuem propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às dos plásticos convencionais (Ojumu *et al.*, 2004; Squio & Aragão, 2004).

Os biopolímeros são, assim, apresentados como uma solução para o grave problema dos resíduos plásticos existentes, transformando-se na forma mais compatível com a filosofia de preservação do ambiente. No entanto, o seu elevado custo de produção torna-os substancialmente mais caros que os plásticos sintéticos. A investigação sobre a produção de biopolímeros a partir de fontes de carbono localmente disponíveis e renováveis, tal como resíduos agrícolas, milho, efluente de lacticínios, entre outras, é economicamente interessante (Ojumu *et al.*, 2004).

## 1.2 POLÍMEROS

Os polímeros<sup>3</sup> são substâncias constituídas por macromoléculas naturais ou artificiais, essas moléculas são formadas por unidades moleculares mais pequenas, monómeros, que se repetem um grande número de vezes, unidos entre si pelo mesmo tipo de ligação (Katz, 1998).

Os polímeros, desde sempre tiveram um papel importante e desde a pré-história que são usados pelo homem. Apesar do primeiro polímero totalmente sintético<sup>4</sup> apenas ter surgido no século XIX e inúmeros outros o terem seguido, sempre existiram os polímeros de origem natural, os que se formam naturalmente e se encontram presentes entre outras, no suporte essencial da vida, a alimentação. Os polímeros sintéticos, com destaque para os plásticos, termo popularmente usado para se referir aos polímeros, proporcionam à sociedade moderna amplas aplicações (Santos & Nartins, 2004; Bastos, 2007).

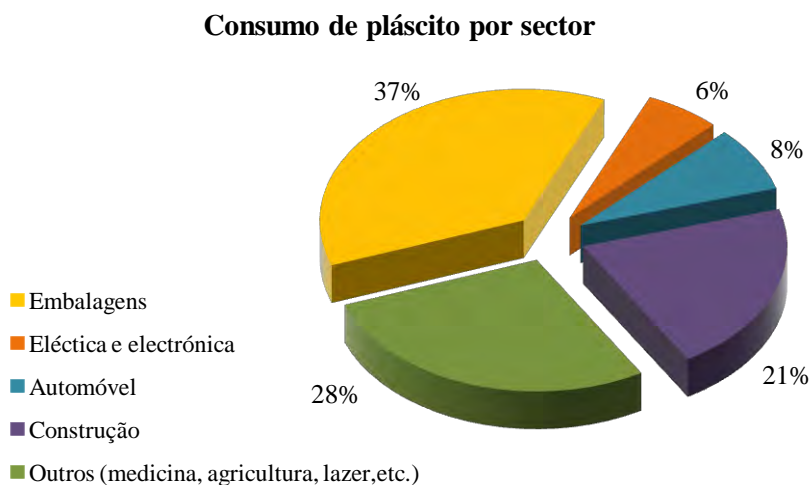
O facto destes compostos serem tão abundantemente usados deve-se às suas propriedades, entre elas a facilidade com que podem ser transformados mediante o emprego de calor e pressão, a sua grande maleabilidade (por apresentarem a propriedade de se adaptarem a formas distintas), a sua impermeabilidade, a sua baixa densidade (baixo peso em relação ao seu volume), a sua baixa condutividade eléctrica, a sua resistência à corrosão e a intempéries, a sua resistência a diversas substâncias químicas e a factores biológicos e, em boa medida, o seu baixo custo (Segura *et al.*, 2007).

Hoje em dia, a maior aplicação para os plásticos continua a ser as embalagens, representando cerca de 37% do total de consumo, seguindo-se o seu uso na construção e demolição que representa cerca de 21%. A indústria automóvel utiliza cerca de 8% e o seu uso na electricidade e electrónica corresponde a cerca de 6%. A utilização na medicina, lazer, agricultura e outras aplicações representam cerca de 28%, como é possível ver na figura 1, (Plastval, 2009).

---

<sup>3</sup> Do grego “polis” que significa muitas e “meros” que significa partes (McCrum *et al.*, 1999; Smith, 1998).

<sup>4</sup> O primeiro polímero sintético, um polímero de fenol-formaldeído, foi introduzido com o nome de “baquelite”, por Leo Baekeland em 1909. Seu uso original era o fabrico de bolas de bilhar. (Katz, 1998)



**Figura 1** – Consumo de plástico por sector em 2007 (Fonte: Plastics Europe).

### ***1.2.1 ORIGEM***

Os polímeros abrangem uma extensa gama de materiais fabricados pelo homem a partir de dois elementos: carbono e hidrogénio. Elementos estes normalmente obtidos a partir de produtos naturais como o petróleo bruto, que por sua vez é constituído por uma mistura complexa de hidrocarbonetos a que se associam certas impurezas tais como compostos de enxofre, azoto ou oxigénio. Os polímeros podem também ser obtidos a partir da madeira, do álcool, do carvão e até do  $\text{CO}_2$ , uma vez que todas estas matérias-primas são também ricas em carbono, átomo principal que constitui os materiais poliméricos. No entanto, o elevado preço de todas estas matérias-primas faz com que sejam menos competitivas perante o petróleo (Santos & Martins, 2004).

### 1.2.2 CLASSIFICAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS POLÍMEROS

Devido à diversidade de funções e estruturas encontradas, os polímeros podem ser classificados de diversas formas, tendo em conta a sua origem, o seu método de preparação, o número e tipo de monómeros da cadeia, a sua aplicação, a sua estrutura molecular, a sua morfologia no seu estado sólido, e entre outras. Cada uma destas classificações fornece diferentes informações. Para este trabalho apenas algumas das classificações vão ser abordadas de seguida, encontrando-se no Anexo I uma classificação mais completa.

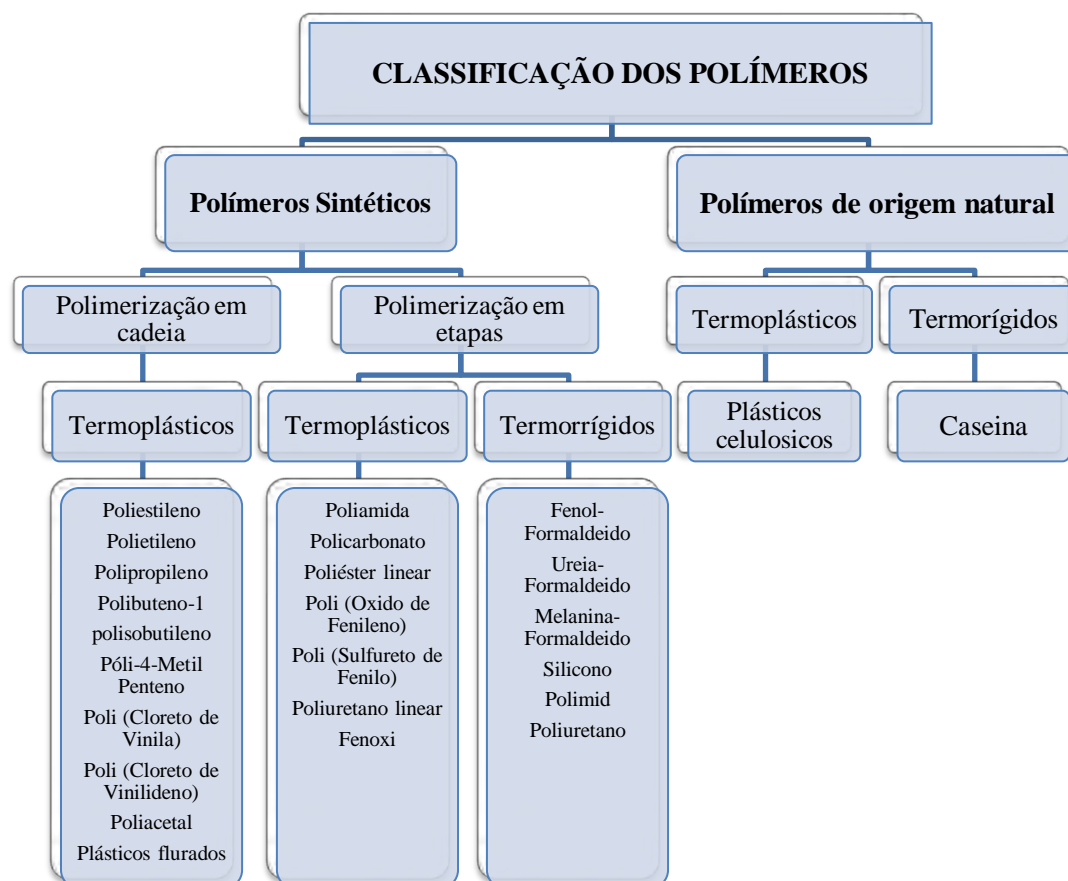
Um polímero que possui apenas um único tipo de monómeros ao longo da sua estrutura designa-se por homopolímero, se for constituído por dois ou mais tipos de monómeros denomina-se copolímero (ou heteropolímero) e constitui uma sequência mais ou menos desordenada das unidades monoméricas. Os copolímeros, em função da forma como as moléculas de monómeros se unem entre si podem apresentar vários tipos. As suas estruturas podem ser distribuídas aleatoriamente, alternadamente, em bloco ou ramificadas, conferindo diferentes estruturas, o que conseqüentemente origina diferentes propriedades (Smith, 1998). Na tabela 1 estão esquematizados homopolímeros e os vários tipos de copolímeros, em que A e B representam moléculas de dois monómeros diferentes.

**Tabela 1** – Homopolímeros e copolímeros.

Polímero		Cadeia
Homopolímero		... A A A A A A ...
Homopolímero		... B B B B B B ...
Copolímero	Aleatório	... A B B A B A A B A ...
	Alternado	... B A B A B A B A B ...
	Em bloco	... A A A A B B B B ...
	Ramificado	A A A A A A
		B B
		B B
		B B

No que diz respeito à sua origem, os polímeros podem ser classificados como naturais e sintéticos. Os naturais são aqueles que se encontram na natureza e apresentam geralmente estruturas mais complexas que os polímeros sintéticos. A título de exemplos temos as proteínas, a celulose, o amido, as resinas. Um dos polímeros naturais mais úteis é a

borracha natural<sup>5</sup>. Os polímeros sintéticos são compostos orgânicos, obtidos industrialmente através de reacções de polimerização geralmente de moléculas simples. Actualmente são os mais usados e têm por base matérias-primas derivadas do petróleo. Como exemplo temos o Nylon, o PVC, o vidro acrílico, o polietileno, etc. (Lucas *et al.*, 2001; Santos & Martins, 2004). A figura 2 apresenta uma classificação dos polímeros em função da sua origem.



**Figura 2** – Classificação dos plásticos segundo a sua origem.  
(Fonte: Adaptado de Santos e Martins (2004)).

Segundo Esgalhado e Rocha (2002) o método mais usual de agrupar os polímeros é, “(...) de acordo com a sua estrutura e sistema de ligação, consequentemente, em termos do seu comportamento mecânico e térmico”. Com base nesta classificação, os polímeros podem

<sup>5</sup> É obtida a partir da seiva da seringueira, látex. Foi o químico Joseph Priestley que a descobriu e lhe deu o nome, verificando que com um pedaço de latex solidificado conseguia apagar marcas de lápis num papel. Em 1839 Charles Goodyear descobre, acidentalmente, que com o aquecimento do látex com o enxofre as suas propriedades se alteravam, tornando-se mais flexíveis e estáveis às diferenças da temperatura. (Katz, 1998)

ser divididos em três categorias principais, os termoplásticos, os termorrígidos (ou termofixos) e os elastómeros (ou borrachas). Os polímeros termoplásticos e os termorrígidos pertencem ao grupo de polímeros vulgarmente designados por plásticos e os elastómeros a um outro grupo de polímeros (Esgalhado & Rocha, 2002).

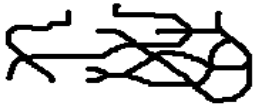


Os **termoplásticos** são polímeros produzidos tanto por polimerização em cadeia como por polimerização por condensação. São susceptíveis de serem amolecidos e repetidamente moldados, quer por aquecimento, quer pela acção de solventes, sem que ocorra alteração significativa das suas propriedades e mantendo uma forma estável após o arrefecimento. No entanto estes materiais possuem um limite de reproprocessamento uma vez que este processo pode levar à sua degradação. Industrialmente, como a sua reciclagem é possível, podem ser reaproveitados para a produção de novos artigos (Esgalhado e Rocha, 2002; Smith, 1998). *Exemplos:* Policarbonato (PC), Polietileno (PE), Politereftalato de etileno (PET), Policloreto de vinilo (PVC), Polipropileno (PP), Poliestireno (PS); Poliestireno expandido (EPS).

Os **termorrígidos** apenas são produzidos por polimerização por condensação e após produzidos, aquecidos ou sofrerem qualquer outra forma de tratamento, tornam-se insolúveis, não podendo ser novamente amolecidos nem moldados. Desta característica resulta que, normalmente, a sua produção e moldagem sejam feitas numa única etapa. Este tipo de polímeros são normalmente mais rígidos e também mais frágeis, não podendo ser reciclados (Esgalhado e Rocha, 2002; Smith, 1998). *Exemplos:* Poliuretano (PU), Resinas insaturadas de poliéster (UP), Politetrafluoro etileno (PTFE), Fenol formaldeído (PF).

Os **elastómeros** são polímeros que exibem elasticidade, conferindo-lhes assim flexibilidade, ou seja, podem receber elevadas deformações elásticas sem se deformarem permanentemente, podendo sempre readquirir a sua forma original. Constituídos por moléculas grandes enroladas de maneira caótica, que quando são submetidos a uma tensão desenrolam-se e deslizam umas sobre as outras, e quando essa tensão termina voltam à estrutura inicial. A sua reciclagem é muito complicada devido à sua incapacidade de fusão.

Na tabela 2 encontram-se representações esquemáticas das três categorias de polímeros.

**Tabela 2** – Comparação das três categorias de polímeros (Esgalhado e Rocha, 2002).

Comportamento	Estrutura	Diagrama
Termoplásticos	Cadeias lineares flexíveis	
Termorrígidos	Rede tridimensional rígida	
Elastómeros	Cadeias lineares interligadas	

### 1.3 A PROBLEMÁTICA DOS POLÍMEROS

Nas últimas décadas e em resultado do aumento da população, do crescimento económico e do incremento do poder de compra, tem se verificado um aumento da quantidade e diversidade da produção de resíduos. De todos os resíduos produzidos grande parte é constituída por produtos industrializados produzidos com polímeros sintéticos. A temática relativa à quantidade e diversidade de resíduos produzidos representa um grande desafio ambiental, social e económico, tanto a nível global, como europeu e mesmo nacional (Agência portuguesa do ambiente, 2007).

Apesar de todas as propriedades favoráveis que os polímeros convencionais possam apresentar do ponto de vista da sua vasta aplicabilidade, possuem características que os transformam num sério problema ambiental. O facto de serem considerados inertes ao ataque imediato de microrganismos faz com que apresentem uma longa durabilidade, inconveniente que dificulta a manipulação dos resíduos gerados pelo seu crescente uso. Os polímeros sintéticos levam mais de uma centena de anos para se decomporem, em comparação com produtos orgânicos que necessitam de 3 ou 4 semanas ou os panos de algodão (5 meses), podem levar de 40 a 50 anos ou até 200 anos. Igualmente, e apesar de não ser tão evidente, acabam por se acumular no meio ambiente, uma vez que a sua

demorada “degradação” apenas gera partículas de menor dimensão (Rosa *et al.*, 2001; Coutinho *et al.*, 2004).

Anualmente produzem-se uma média de 200 milhões de toneladas de plásticos no mundo. Em 2005, Portugal continental produziu 4,5 milhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos, o que equivale a cerca de 1,2 kg por habitante por dia, sendo que 13% dos RSU corresponde aos plásticos (Coutinho *et al.*, 2004; Agência portuguesa do ambiente, 2007).

Para além do aspecto ambiental relativo à baixa taxa de degradação do material no ambiente, os polímeros convencionais têm origem num recurso não renovável, o petróleo, que como recurso finito que é deve ser objecto de uso racional. Não deixando de referir que o preço do recurso não renovável que lhe dá origem tem vindo a aumentar continuamente nas últimas décadas, tendo disparado no Verão de 2005. A escassez e o elevado custo dos recursos fósseis exigem a escolha de recursos e processos alternativos num futuro próximo (Lee, 1996; Steinbuchel, 2005). Segundo dados da Abiquini (2000) 4% do petróleo é transformado em plástico.

A tomada de consciência da problemática sobre os plásticos tem vindo a aumentar, não só em relação à sua persistência, como a sensibilidade ao impacte que os resíduos dos plásticos abandonados têm no meio ambiente, incluindo os efeitos prejudiciais que têm sobre a vida selvagem e a qualidade estética das cidades e das florestas. Nos últimos anos a comunidade científica tem vindo a desenvolver possíveis alternativas estratégicas para minimizar este impacto ambiental bem como para uma melhor gestão destes resíduos sólidos de plásticos derivados do petróleo (Rosa *et al.*, 2002; Ojumu *et al.*, 2004).

Uma das estratégias que se tem utilizado é a incineração, no entanto além de ser uma opção cara, é considerada como uma forma de poluição secundária. Durante a queima dos plásticos é libertado para a atmosfera CO<sub>2</sub>, bem como produtos químicos nocivos, como o cloreto de hidrogénio e cianeto de hidrogénio (Reddy *et al.*, 2003).

Outra estratégia usada é a reciclagem, que consiste no reaproveitamento dos produtos plásticos, que em vez de serem considerados resíduos, são usados como matéria-prima para um novo produto plástico. No entanto, esta estratégia apresenta também alguns inconvenientes, na medida que não é exercida uma gestão adequada durante a recolha dos plásticos e nem durante o próprio processo de reciclagem, especificamente na selecção, separação e limpeza dos plásticos. Outro inconveniente da reciclagem é o facto de



existirem materiais plásticos que não se poderem reciclar indefinidamente, mas apenas tantas vezes quanto as suas condições físicas e químicas o permitirem. Além disso, nem todos os plásticos são recicláveis, os termoplásticos são um tipo de plásticos que sofrem modificações irreversíveis ao serem modelados e que em geral não são recicláveis. Existem ainda aqueles plásticos que ao serem reciclados sofrem alterações de tal modo que a sua gama de aplicação fica limitada (Reddy *et al*, 2003; Ojumu *et al*, 2004).

A gestão de resíduos sólidos plásticos requer combinações complementares de incineração, reciclagem e biodegradação. Tem sido proposta uma extensa gama de alternativas biodegradáveis para mitigar o problema, desenvolvendo novos materiais e novos métodos de produção que permitem gerar novos tipos de polímeros que apresentam as mesmas propriedades mas que têm um período de degradação mais curto (Silva, 2007).

Esses polímeros ditos “ideais”, em termos de desenvolvimento sustentável, teriam de ser provenientes de recursos renováveis, possuir um melhor e económico método de produção, possuir uma forma de reconversão aperfeiçoada para formas adequadas, para assim diminuir o impacto no ambiente aquando da sua disposição final (Reddy *et al.*, 2003; Afonso, 2006).

Como alternativas compatíveis com a filosofia do desenvolvimento sustentável surgiu então o estudo dos polímeros biodegradáveis, que têm como principal característica a biodegradabilidade, ou seja, possuem fácil degradação quando estão em contacto com diversos tipos de microrganismos. Além disso, os polímeros biodegradáveis são obtidos a partir de fontes renováveis, podendo utilizar uma variedade de substratos como, por exemplo, sacarose, amido, óleo mineral e subprodutos da agro-indústria como soro de leite, cana-de-açúcar, entre outros, não ficando assim sujeitos às oscilações de preço do petróleo, nem à sua escassez. Estes materiais oferecem também uma boa solução para a gestão de resíduos e em alguns casos, são um bom substituto para o plástico convencional, tão desejado pelas suas propriedades mecânicas (Lee, 1996; Martins *et al.*, 2004; Steinbuchel, 2005; Luvizetto *et al*, 2006; Segura *et al.*, 2007).

Nos últimos anos tem-se dado grande importância aos polímeros biodegradáveis e os vários estudos efectuados revelam a sua aplicabilidade em resultado da sua biocompatibilidade, capacidade de dissolução no interior dos organismos e propriedades mecânicas. Os biopolímeros são encontrados na área médica, no sector agrícola e também

no sector das embalagens. Tal facto apresenta grande interesse, uma vez que o sector das embalagens é aquele que apresenta maior uso de plásticos convencionais (Rosa et al, 2001)..

No entanto, os biopolímeros ainda não são capazes de competir com os polímeros convencionais, sobretudo devido ao seu elevado custo de produção e a um inferior desempenho.

#### **1.4 BIOPOLÍMEROS**

Os biopolímeros, nomenclatura dada aos polímeros biodegradáveis, podem ser definidos como qualquer polímero (proteína, ácido nucleico, polissacarídeo), no qual a degradação resulta da acção de microrganismos vivos de ocorrência natural, tais como bactérias, fungos e algas, ou seja, polímeros produzidos por processos biológicos. A matéria-prima principal para a sua produção é uma fonte de carbono renovável, geralmente um hidrato de carbono como cana-de-açúcar, milho, batata, trigo e beterraba; ou um óleo vegetal extraído da soja, girassol, palma ou outra planta oleaginosa.

Foram desenvolvidos quatro tipos de plásticos biodegradáveis: os fotodegradáveis, os semi-biodegradáveis, os biodegradáveis sintéticos e os biodegradáveis naturais.

Os plásticos fotodegradáveis possuem grupos sensíveis à luz que estão incorporados directamente no esqueleto do polímero como aditivos. Após expostos à luz ultravioleta (durante várias semanas ou meses) a sua estrutura polimérica desintegra-se numa estrutura aberta permitindo ser decomposta em partículas de plástico mais pequenas que, em alguns casos, são susceptíveis de degradação por bactérias. No entanto, nos aterros a ausência de luz solar faz com que permaneçam como material não degradável.

Os plásticos semi-biodegradáveis, possuem açúcares incorporados que unem pequenos fragmentos de polietileno. Quando chegam aos aterros as bactérias degradam os açúcares,

permitindo que os fragmentos de polietileno sejam libertados, no entanto estes fragmentos permanecem como material não degradável.

Recentemente foram desenvolvidos outro tipo de plástico sintético que é degradável. Este plástico é baseado em polietenol ou álcool polivinílico e tem uma estrutura semelhante ao polietileno. A presença do grupo hidróxilo (-OH) neste polímero faz com que este seja hidrófilo, ou seja, solúvel em água.

Por último, os plásticos biodegradáveis naturais constituem o quarto tipo, novos e promissores devido à sua utilização efectiva por bactérias para formar um biopolímero. Entre eles encontram-se os polihidroxialcanoatos (PHA), os ácidos poliláctidos, os poliésteres alifáticos, os polissacarídeos e os copolímeros seus derivados, e/ou suas misturas (Segura *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2007).

Entre todos os plásticos biodegradáveis, os PHAs foram os que mais chamaram a atenção por possuírem propriedades muito semelhantes aos plásticos convencionais, entre eles os termoplásticos e elastómeros. O facto de os PHAs poderem ser produzidos a partir de recursos renováveis, serem completamente biodegradáveis e possuírem boa capacidade de processamento que apenas é verificada em plásticos e resinas sintéticas, torna-os adequados para aplicações em diversas áreas, sendo parcialmente um bom substituto para os polímeros sintéticos não biodegradáveis (Choi & Lee, 1999; Ojumu *et al.*, 2004).

#### **1.4.1 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS**

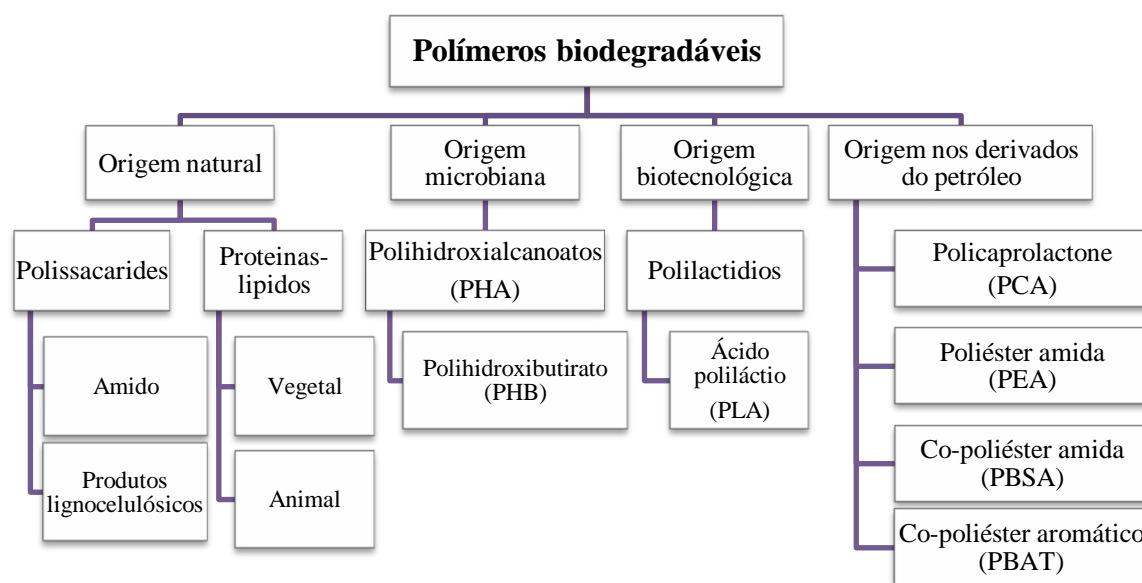
Os biopolímeros podem ser classificados tendo em conta a sua estrutura, a origem, o tipo de produção e processo, a importância económica, a sua aplicação, etc. Cada uma destas classificações fornece diferentes informações (Smith, 2005).

Guilbert (2000) divide os biopolímeros segundo a sua origem em três grupos. Os biopolímeros de origem natural, que muitas vezes são usados em mistura com polímeros sintéticos biodegradáveis; os biopolímeros de origem microbiana, formados a partir da fermentação de matérias-primas; os biopolímeros de origem biotecnológica, polimerizados por processos químicos convencionais e obtidos a partir da fermentação de matérias-

primas e usados como substrato, sendo o material mais conhecido desta categoria o ácido poliláctico, PLA.

Averous (2002) adiciona a estes três grupos uma quarta classe, os biopolímeros derivados por síntese, obtidos da indústria petroquímica por via sintética clássica e representada por vários biopolímeros e subgrupos.

A figura 3 apresenta uma classificação dos biopolímeros em função da sua origem.

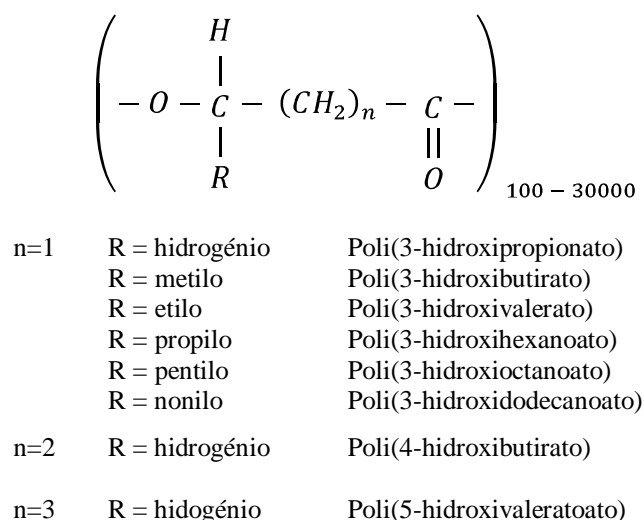


**Figura 3** – Classificação dos biopolímeros segundo a sua origem.  
(Fonte: adaptado de Averous (2002)).

#### 1.4.2 POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAS)

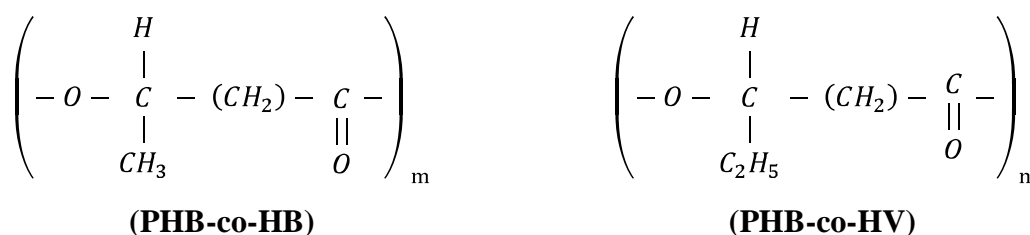
Os polihidroxialcanoatos (PHAs) pertencem à classe dos poliésteres de hidroxialcanoatos (HAs). São poliésteres naturais que muitos organismos acumulam sob a forma de grânulos intracelulares para armazenar carbono e/ou energia, geralmente em condição de limitação nutricional de elementos como N, P, S, O ou Mg na presença de fonte de carbono em excesso. São conhecidos mais de 300 diferentes microrganismos que sintetizam e acumulam intracelularmente PHAs. (Lee, 1996; Lee & Choi, 1999) Na figura 4 encontra-se a estrutura geral dos polihidroxialcanoatos.

Os PHAs diferem no tipo de grupos independentes e no número de átomos de carbono da cadeia principal, classificados como hidroxialcanoatos de cadeia curta (C4 e C5) e cadeia média ( $\geq$  C6). O poli(3-hidroxiбутирато) [PHB] é o PHA mais estudado e após a sua descoberta em 1926, uma grande variedade de PHAs foram também descritos (Lee & Choi, 1999, Aldor & Keasling, 2003).



**Figura 4** – Estrutura geral dos polihidroxi alcanoatos (PHAs).

Em muitos casos verifica-se a formação de co-polímeros, que resultam da associação de polímeros e monómeros. Com esta associação o polímeros, agora co-polímeros vêm as suas propriedades físicas e mecânicas alteradas. Existem mais de 140 monómeros, no entanto os mais comummente estudados são o hidroxi бутирато (HB) e o hidroxi valerato (HV). O PHB é caracterizado como sendo um biopolímero duro e quebradiço, mas com a introdução de um monómero a sua elasticidade e flexibilidade aumenta, proporcionando-lhe propriedades semelhantes às do polipropileno. O PHB pode ser apresentado como co-polímero poli(3-hidroxi бутирато) (PHB-co-HB) e poli(3-hidroxi valerato) (PHB-co-HB), ver figura 5, (Lenz & Marchessault, 2005; Bengtsson *et al.*, 2007).



**Figura 5** – Estrutura do copolímero poli(3-hidroxibutirato) e copolímero poli(3-hidroxivalerato).

Concluindo, os biopolímeros possuem propriedades, que dependem da sua composição e derivam da grande variedade de monómeros, propriedades essas semelhantes a vários termoplásticos e elastómeros convencionais. O PHB é reconhecido como um termoplástico biodegradável, ou seja, para além de apresentar as características de um polímero termoplástico convencional possui a vantagem de poder ser degradado por microrganismos. Como termoplásticos que são, os PHB, são capazes de serem aquecidos e repetidamente, moldados sem que ocorra alteração significativa das suas propriedades e mantendo uma forma estável após o arrefecimento.

Actualmente, os PHAs comercialmente disponíveis apresentam um elevado custo, associado à sua convencional produção, que utiliza culturas microbianas puras que necessitam de condições estéreis e geralmente substratos puros de elevado custo. Uma solução emerge da possibilidade de utilizar culturas mistas enriquecidas com bactérias produtoras de PHA e que se tornam economicamente mais acessíveis, dado que não necessitam de condições estéreis. No entanto, encontrando-se o preço dos PHAs dependente principalmente do custo do substrato, que representam cerca de 40% dos custos totais de produção, explorar a utilização fontes de carbono renováveis como substrato seria economicamente interessante e resultaria na possibilidade de produção deste biopolímero comercialmente a bom preço (Choi & Lee, 1999; Ojumu & Solomon, 2004; Albuquerque et al., 2007; Bengtsson et al., 2008).

## 2 EFLUENTES DE INDÚSTRIAS DE LACTICÍNIOS

### 2.1 INDÚSTRIAS DE LACTICÍNIOS

O leite é uma fonte de alimento excepcionalmente completa e desde sempre desempenhou um papel de destaque na alimentação humana. Consequentemente transforma a indústria de lacticínios num dos maiores segmentos mundiais da indústria de produção alimentar.

Uma indústria de lacticínios convencional está tipicamente envolvida na produção simultânea de vários produtos. Grande parte do volume de leite processado é canalizada para a produção de produtos frescos nomeadamente o leite e natas para consumo, iogurtes, bebidas à base de leite e outros produtos frescos, o excedente é usado para o fabrico de queijos, manteigas, leite em pó e soro (Totzke, 1992).

O leite é uma mistura que consiste em 85-89% de água e 11-15% de sólidos totais, os quais compreendem sólidos gordos e sólidos não-gordos. Os sólidos não-gordos são maioritariamente compostos por proteínas, açúcares, minerais e microrganismos. Os teores de gordura e de outros constituintes do leite variam com a espécie produtora, alimentação, estado de lactação, saúde do animal, local de colheita do leite e condições ambientais e sazonais, conforme descrito na Tabela 3, (Kirk-Othmer, 1995).

**Tabela 3** - Constituintes do leite de várias espécies de mamíferos, valores médios em percentagem ponderal (adaptado de Hui, 1992 e de Kirk-Othmer, 1995).

Espécie	Água	Gorduras	Proteínas	Lactose	Cinzas	Sólidos não-gordos	Sólidos totais
Humano	87,4	3,75	1,63	6,98	0,21	8,82	12,57
Vaca							
Holstein	88,1	3,44	3,11	4,61	0,71	8,43	11,87
Ayrshire	87,4	3,93	3,47	4,48	0,73	8,86	12,61
Suíça	87,3	3,97	3,37	4,63	0,72	8,72	12,69
Guernesey	86,4	4,5	3,6	4,79	0,75	9,14	13,64
Jersey	85,6	5,15	3,7	4,75	0,74	9,19	14,34
Cabra	87,0	4,25	3,52	4,27	0,86	8,65	12,90
Ovelha	82,0	7,2	4,6	4,8	0,9	-	-
Camelo	87,61	5,38	2,98	3,26	0,70	6,94	12,32
Cavalo	89,04	1,59	2,69	6,14	0,51	9,34	10,93

A gordura do leite é considerada a mais complexa de todas as gorduras comuns por ser uma mistura de triglicerídeos e diglicerídeos. Possuindo os três tipos de triglicerídeos, de cadeia curta, C<sub>24</sub>-C<sub>46</sub>, de cadeia média, C<sub>34</sub>-C<sub>54</sub> e de cadeia longa, C<sub>40</sub>-C<sub>60</sub>. A gordura do leite possui também um valor elevado de ácidos gordos, chegando mesmo a possuir mais ácidos gordos do que as gorduras vegetais. A tabela 4 apresenta a constituição dos lípidos do leite de vaca.

**Tabela 4** - Composição dos lípidos do leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).

<b>Tipo de lípido</b>	<b>Gama de concentração</b>
Triglicerídeos da ácidos gordos, %	97,0 – 98,0
Diglicerídeos, %	0,25 – 0,48
Monoglicerídeos, %	0,016 – ‘,038
Glicerídeos ceto ácidos, %	0,85 – 1,28
Glicerídeos aldeídrogénicos, %	0,011 – 0,015
Éteres de gliceril, %	0,001 – 0,023
Ácidos gordos livres, %	0,10 – 0,44
Fosfolipídeos, %	0,2 – 1,0
Cerebrósidos, %	0,013 – 0,066
Esteróis, %	0,22 – 0,41
Carbonilos neutros livres,ppm	0,1 – 0,8
Esqualeno, ppm	70
Carotenóides, ppm	7 - 9
Vitamina A, ppm	6 - 9
Vitamina D, ppm	0,0085 – 0,021
Vitamina E, ppm	24
Vitamina K, ppm	1

Os ácidos gordos do leite podem ser classificados como saturados ou insaturados e como solúveis ou insolúveis. Sendo a gordura do leite composta, principalmente, por ácidos gordos saturados (65%), mas também contém ácidos gordos mono-saturados (32%) e poli-saturados (3%) (Kirk-Othmer, 1995). As tabela 5,tabela 6 e tabela 7 apresentam os teores de ácidos gordos e ácidos gordos saturados e insaturados no leite de vaca.



**Tabela 5** - Ácidos gordos no leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).

Ácido gordo <sup>1)</sup>	Concentração (% de ácidos totais)	
	Gama	Média
Butírico (4:0)	2,4 – 4,23	2,93
Hexanóico (6:0)	1,29 – 2,40	1,90
Octanóico (8:0)	0,53 – 1,04	0,79
Decanóico (10:0)	1,19 – 2,01	1,57
Laúrico (12:0)	4,53 – 7,69	5,84
Mirístico (14:0)	15,56 – 22,62	19,78
Oleico (18:1)	25,27 -40,31	31,90
Palmítico (16:0)	5,78 -29,0	15,17
Esteárico (18:0)	7,80 -20,37	14,91

1) Designação abreviada dos ácidos: por exemplo 18:0 significa ácido C<sub>18</sub> saturado, 18:1 significa ácido C<sub>18</sub> com uma ligação dupla, etc.

**Tabela 6** - Ácidos gordos saturados como percentagem de ácidos totais na gordura do leite vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).

Ácido <sup>1)</sup>	%	Ácido <sup>1) 2)</sup>	%
4:0	2,79	5:0	0,01
6:0	2,34	7:0	0,02
8:0	1,06	9:0	0,03
10:0	3,04	11:0	0,03
12:0	2,87	13:0	0,06
14:0	8,94	13:0 rm	0,04
14:0 rm	0,10	15:0	0,79
16:0	23,80	15:0 rm A	0,24
16:0 rm	0,17	15:0 rm B	0,38
18:0	13,20	17:0	0,70
18:0 rm	Vestígios	17:0 rm A	0,35
20:0	0,28	17:0 rm B	0,25
20:0 rm	Vestígios	19:0	0,27
22:0	0,11	21:0	0,04
24:0	0,07	23:0	0,03
26:0	0,07	25:0	0,01

1) Ver nota na tabela anterior, 18:0 rm significa ácido C<sub>18</sub> saturado de cadeia ramificada; 2) A e B designam isómeros.

**Tabela 7** - Ácidos gordos insaturados como percentagem dos ácidos gordos totais na gordura do leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).

Cadeia par		Cadeia ímpar			
Ácido	%	Ácido	%	Ácido	%
10:1 <sup>1)</sup>	0,27	20:2	0,05	15:1	0,07
12:1 <sup>2)</sup>	0,14	20:3	0,11	17:1	0,27
14:1 <sup>2)</sup>	0,76	20:4	0,14	19:1	0,06
16:1 <sup>3)</sup>	1,79	20:5	0,04	21:1	0,02
18:1 <sup>3)</sup>	29,60	22:2	0,03	23:1	0,03
18:2	2,11	22:2	0,01		
18:2 c,t conj <sup>4)</sup>	0,63	22:3	0,02		
18:2 t,t conj <sup>4)</sup>	0,09	22:4	0,05		
18:3	0,50	22:5	0,06		
18:3 conj	0,01	24:1	0,01		
20:1	0,22				

1) Ligação dupla terminal; 2) inclui isómeros *cis* e *trans* e de ligação dupla terminal; 3) inclui isómeros *cis* e *trans*; 4) c,t = *cis-trans*, t,t = *trans-trans*, conj = conjugado.

A indústria de lacticínios sofreu um grande impulso comercial a partir do momento em que foram desenvolvidos métodos de preservação do leite (Nadais, 2002). O aumento do consumo e consequente produção de leite, conduziu à necessidade de aperfeiçoar as técnicas de produção, normas de segurança, transporte e equipamentos/recipientes para a sua conservação, de forma a garantir um produto limpo, saudável e com maior tempo de conservação, assim salvaguardando também, as exigências definidas pela lei.

Vários processos e tecnologias de produção foram adoptados, desde o arrefecimento, à centrifugação, pasteurização (UHT e HTST), sistemas de limpeza CIP e SIP até ao reaproveitamento (Kirk-Othmer, 1995).

- O leite após a sua recolha, normalmente a 35°C, tem de ser arrefecido o mais rapidamente possível para 4,4°C. A esta baixa temperatura é minimizado o desenvolvimento de microrganismos e a actividade enzimática, mantendo assim a sua qualidade.
- Aquando da centrifugação ocorre uma separação e remoção parcial da gordura do leite, levando à produção de um clarificado que é, nada mais que o leite

homogeneizado. Por definição considera-se que o leite está homogeneizado quando foi tratado para quebrar os glóbulos de gordura numa extensão tal que, após 48 horas de armazenamento quiescente, a 7°C, não ocorre separação visível de nata.

- A pasteurização consiste em aquecer o leite seguido de um arrefecimento e tem com o objectivo eliminar as bactérias patogénicas, não alterando a composição nutricional do leite, serve apenas para prolongar a sua conservação.

Na pasteurização UHT, (*Ultra-High Temperature Treatment*), o leite é sujeito a uma temperatura de 132°C durante 1 a 2 segundos enquanto que na pasteurização HTST (*High Temperature/Short Time*) o leite é aquecido a 71,7°C durante 15 segundos.

- Actualmente os sistemas de limpeza utilizados são altamente automatizados, tendo evoluídos de sistemas manuais com simples recirculação de águas de lavagem nos equipamentos e tubagens, estes possuem válvulas, controladores e temporizadores.

Os sistemas CIP e SIP, respectivamente *Clean in Place* e *Sterilization in Place*, permitem a limpeza e respectiva esterilização das tubagens numa forma automatizada e segura sem paragem de produção. Há ainda a possibilidade de reutilizar as soluções lavadoras após filtração.

Numa corrida dum sistema CIP típico há seis ciclos:

- 1) No primeiro ciclo a água é bombeada pela montagem ligada à turbina de aquecimento até aos pontos de saída do sistema (torneiras), sendo normalmente a descarga líquida resultante enviada para o esgoto ou para um tanque de recolha, para ser filtrada e devolvida ao tanque de lavagem para voltar a ser reutilizada.
- 2) No segundo ciclo verifica-se uma repetição do primeiro mas de duração controlada.
- 3) No terceiro ciclo é utilizada uma solução cáustica como meio de lavagem, que no fim é filtrada para voltar a ser reutilizada.
- 4) No quarto ciclo é efectuada uma lavagem com água do tanque de água de lavagem.

- 5) No quinto ciclo é realizada uma limpeza ácida que neutraliza o restante agente cáustico.
  - 6) No sexto e último ciclo, é introduzida água e seguidamente seca-se o sistema com recurso a passagem de ar quente forçado.
- Uma das formas de reaproveitamento da água que é utilizada na limpeza, higiene, aquecimento, arrefecimento e limpeza de pavimentos, contém elevadas quantidades de componentes orgânicos dissolvidos tais como, proteínas, lactose, gordura e minerais, consiste em fazer uma separação por membrana em conjugação com um agente coagulante (Sarkar *et al.*, 2006).

## **2.2 EFLUENTES DE INDÚSTRIAS DE LACTICÍNIOS**

Como já foi anteriormente referido, a indústria de lacticínios gera efluentes essencialmente constituídos por leite que é rico em nutrientes. Toda esta abundância de nutrientes faz com que os efluentes das indústrias de lacticínios tenham níveis elevados de CQO, CBO, óleos e gorduras, azoto e fósforo, o que leva a que sejam classificados como efluentes complexos.

O Sistema CIP não resolve todos os problemas de efluentes uma vez que é impossível eliminar totalmente o desperdício que ocorre durante as operações de trasfega, limpeza e normal decorrer do processo fabril.

Quase todo o leite de vaca e os seus produtos são clarificados, pasteurizados e homogeneizados. A pasteurização, aparentemente, não afecta o conteúdo e a composição dos lípidos, apesar de não haver ainda investigações conclusivas sobre este aspecto (Jensen, 1995). Pelo contrário, a homogeneização altera a estrutura e a composição da membrana dos glóbulos de gordura. Por este motivo, a homogeneização é uma operação importante no que diz respeito às características do efluente gerado, nomeadamente por transformar a gordura numa forma em que se torna dificilmente separável do resto da mistura (emulsão estável).

As elevadas quantidades de matéria orgânica, grandes quantidades de sólidos suspensos totais (SST), bem como minerais, vitaminas, algumas espécies bacterianas, fibras, polpa de frutos, etc., associados ao facto de a tecnologia CIP rejeitar habitualmente águas de lavagem com pH que varia entre 1 e 13, resultam num efluente complexo com características variáveis. Caso este efluente fosse lançado sem tratamento prévio no meio hídrico, levaria rapidamente ao crescimento de microrganismos filamentosos e desoxigenação do meio aquático, bem como a uma degradação por poluição térmica, das condições de crescimento da flora e fauna dos ecossistemas. Desta forma, o tratamento destes efluentes é dirigido principalmente a redução de matéria orgânica biodegradável (Briao, 2000).

Grande parte das indústrias de lacticínios têm redes de esgotos separativas, isto é, separam os efluentes industriais dos efluentes domésticos e pluviais.

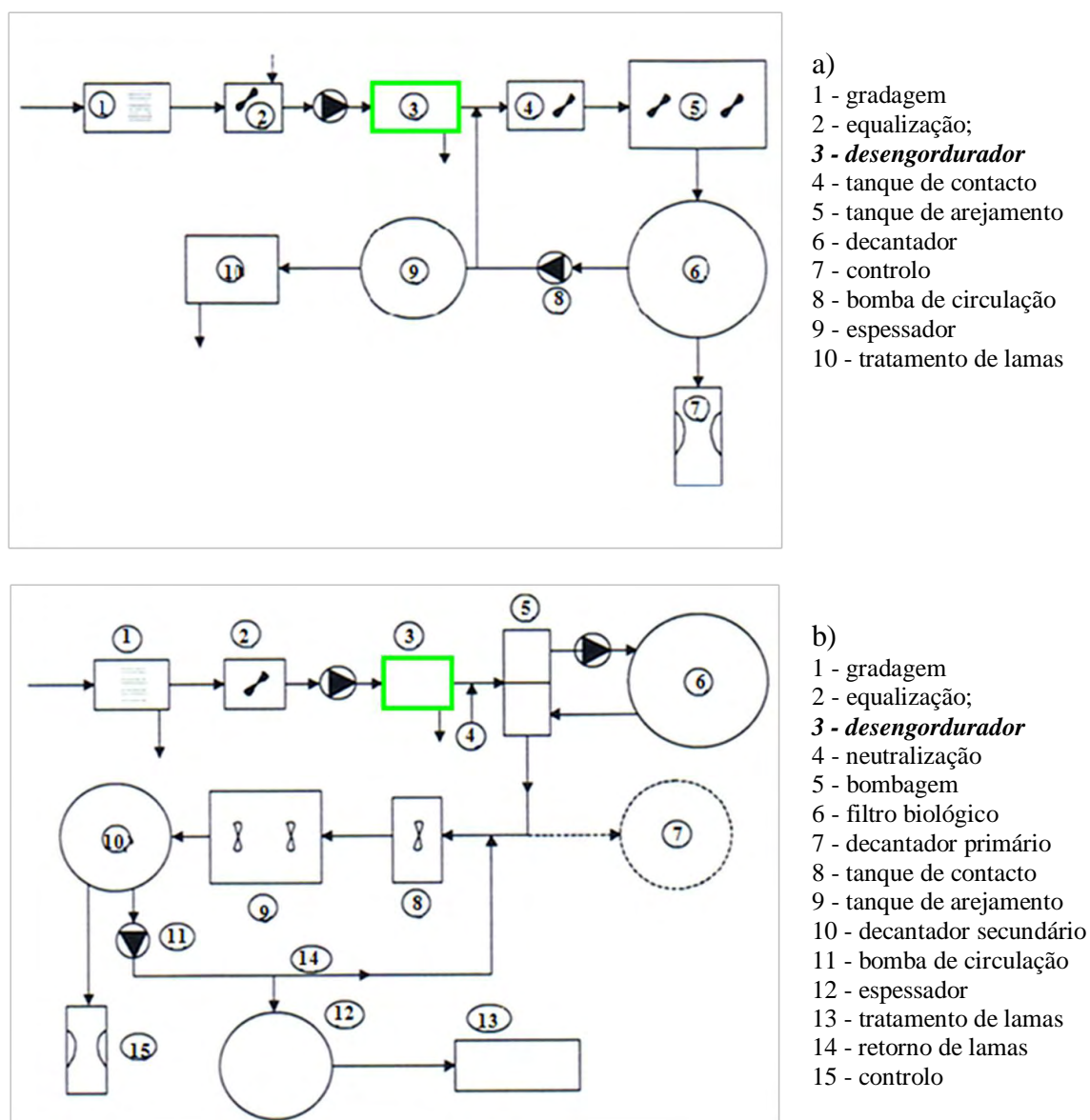
Os efluentes duma indústria de lacticínios são o resultado de todo o processo, ou seja, resulta da incorporação de correntes de tratamento fácil com correntes com poluentes mais complexos, provenientes de outros pontos do processo que acabam por contaminar as anteriores e, além disso, resulta na utilização da água, que é um recurso escasso, como meio de transporte de poluentes. Uma solução para os efluentes na indústria de lacticínios seria a separação das correntes ao longo do processo. Um exemplo é a separação do soro de queijo das restantes correntes de efluentes líquidos, com características diferentes dos restantes efluentes é tratado separadamente ou recuperado (Nysten, 1981; Totzke, 1992).

Inicialmente os efluentes de indústrias de lacticínios eram tratados em sistemas municipais comuns, nos últimos 25 anos esta perspectiva mudou consideravelmente, devido ao aumento dos custos de descarga impostos pelas autarquias municipais, pelo que, hoje em dia, grande parte das indústrias de lacticínios trata os seus efluentes, parcial ou totalmente, no local (Danalewich *et al.*, 1998).

Os sistemas de tratamento convencionais, para efluentes de indústrias de lacticínios, são constituídos por leitos percoladores, lamas activadas, irrigação, lagunagem, digestão anaeróbia e recentemente reactores SBR (Sequencing Batch Reactor). O tratamento biológico destes efluentes é, geralmente, considerado em três partes: pré-tratamento (gradagem remoção de gorduras, equalização, arejamento), remoção de carga orgânica e polimento final (Nemerow, 1971; Talbot, 1992; Pucal, 2000).

Em Portugal e nos outros países da Europa, a configuração, mais comum para uma estação de tratamento de efluentes de indústrias de lacticínios compreende uma gradagem, um desgordurador, um tanque de equalização, o tratamento biológico (em uma ou duas fases) com recirculação de lamas e a decantação do efluente final antes da descarga (Nadais, 2002), ver figura 6.

Na prática corrente o tratamento de efluentes de indústrias de lacticínios varia consideravelmente, já que cada instalação produz um tipo diferente de efluente e, assim um esquema de tratamento que se aplique a um caso pode não ser aplicável a outro.



**Figura 6** – Sistemas de tratamento biológico a) em uma e b) em duas fases.

Numa estação de tratamento de efluentes de indústrias de lacticínios o desengordurador, representado na figura 6 com o número 3, assume uma funcionalidade indispensável pela função que desempenha. O desengordurador tem como função remover matéria orgânica insolúvel, especificamente remover óleos e gorduras. A introdução de ar na fase líquida estabelece uma ligação com as partículas de matéria insolúvel, criando uma força flutuante entre as partículas e o ar que as leva para a superfície. Os vários tipos de desengorduradores diferem entre si na forma como as bolhas de ar são adicionadas ao efluente, podendo ser por arejamento à pressão atmosférica (flotação por ar disperso) ou, o mais comum, por injeção de ar líquido sob pressão - DAF (flotação de ar dissolvido). No sistema DAF o ar é injectado sob pressão no efluente, que à medida que sobe para adquirir a pressão atmosférica transporta nas bolhas de ar as gorduras para a superfície. À superfície, o desengordurador possui um raspador que remove as gorduras. Estas gorduras removidas, denominadas lamas de DAF, são posteriormente encaminhadas para aterro. (Metcalf & Eddy, 2003).

As gorduras ao sofrerem esta disposição final, não só não são valorizadas como constituem um problema ambiental. Actualmente, e devido à Directiva Aterros, Decreto-Lei 152/2002 de 23 de Maio, as gorduras removidas não podem ser depositadas em aterro. Esta directiva determinou que, até 2006, a deposição de matéria orgânica em aterros fosse reduzida em 75% face às quantidades registadas em 1995, que em 2009 essa deposição fosse apenas de 50% e em 2016 apenas 35%. Esta medida tem também como objectivo reduzir a quantidade de materiais depositados em aterro que possam ter uma qualquer viabilidade de valorização, espera assim reduzir de 41% verificado em 1995 para 22% em 2016 (EEA, 2001).

A matéria orgânica que não pode ser enviada para aterro pode assim ser valorizada, como é o caso das gorduras retiradas das estações de tratamento em geral e das estações de tratamento de indústrias de lacticínios em particular. Essa valorização está associada à crescente tendência que o tratamento seja aliado a uma valorização da matéria orgânica, quer energética, quer na produção de materiais com aplicações muito diversas (Nadais, 2009).

## **2.1 INDÚSTRIAS DE LACTICÍNIOS EM PORTUGAL**

De acordo com dados do INE, em Portugal, a produção anual da indústria de lacticínios representa cerca de 766,61 milhões de euros. No ano de 2007 o volume de leite (antes de ser processado) foi de 2.028 milhões de litros (INE, 2007). Quanto à quantidade de efluente gerado é incerto o valor, dado que não existe um consenso quanto ao coeficiente volumétrico da relação volume efluente gerado/volume de leite processado para esta indústria, pois neste sector há muitas diferenças entre os processos industriais e procedimentos usados. Segundo Veyseyre (1988), para as indústrias que produzem produtos à base de lacticínios, para cada litro de leite, são gerados 7 a 10 litros de efluente. Isto significaria que em Portugal são gerados entre 14.196 a 20.280 milhões de litros de efluente, por ano.



### 3 ACIDOGÉNESE COMO ETAPA DA DIGESTÃO ANAERÓBIA

#### 3.1 MICROBIOLOGIA E BIOQUÍMICA DO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbica é caracterizada por ser um processo biológico, realizado na ausência de oxigénio, através do qual a matéria orgânica biologicamente degradável é convertida em metano e dióxido de carbono.

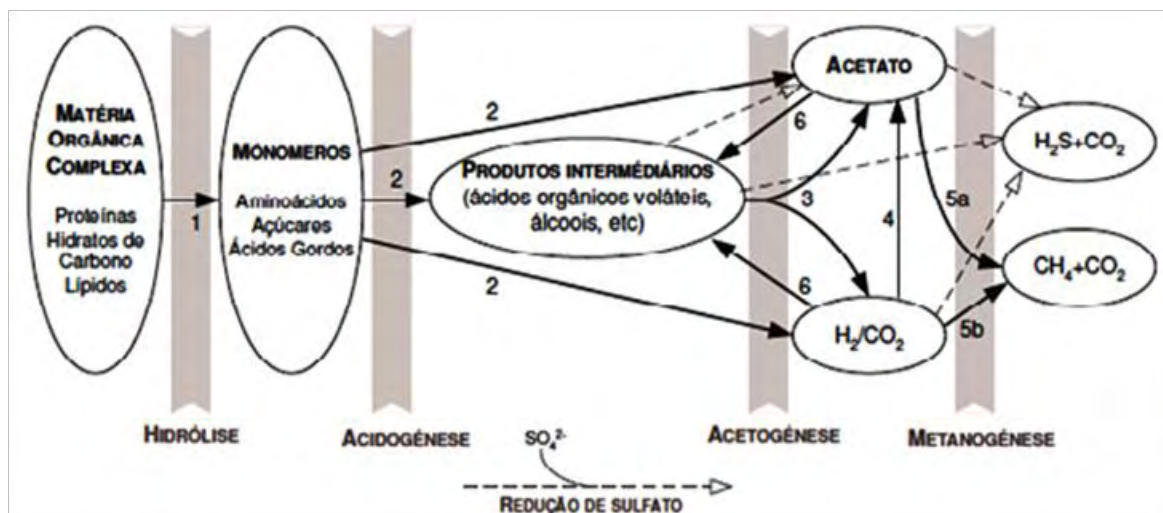
A microbiologia e a bioquímica do processo de degradação anaeróbia são muito mais complexas do que as do processo aeróbio, devido à maior diversidade de caminhos metabólicos disponíveis para a comunidade anaeróbia. De facto, a degradação anaeróbia da matéria orgânica a metano e dióxido de carbono, envolve uma cadeia sequencial de percursos metabólicos e requer a acção combinada e coordenada de diferentes grupos tróficos de bactérias anaeróbias (Henze e Harremões, 1983; Alves, 1995).

As bactérias intervenientes no processo de digestão anaeróbia diferem consideravelmente umas das outras em termos de necessidades nutricionais, tolerância a valores distintos de pH e apresentam fisiologias, taxas de crescimento, cinéticas reaccionais e respostas a condições ambientais adversas e distintas (Demirel e Yenigun, 2002; Yang et al., 2003; Demirel e Chen, 2005; Chen et al., 2008).

O papel microbiano da digestão anaeróbia depende da finalidade do processo, do ponto de vista da engenharia do ambiente pode ser utilizada no tratamento de efluentes (remoção de matéria orgânica), na produção de metano ou estabilização e sanitização de resíduos (Toerien *et al.*, 1970).

A digestão anaeróbia é um processo microbiológico complexo, caracterizado por 4 sequências principais de degradação, interligadas entre si pela existência de diferentes grupos tróficos de bactérias, que se desenvolvem fundamentalmente pela existência de uma relação equilibrada e coordenada (Nachaiyasit e Stuckey, 1995; O'Flaherty *et al.*, 2006).

Na figura 7 encontra-se representado um esquema do processo de digestão anaeróbia, onde é possível distinguir as 4 sequências principais de degradação.



**Figura 7** – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de O’Flaherty *et al.*, 2006).

1-bactérias hidrolíticas; 2-bactérias acidogénicas; 3-bactérias produtoras obrigatórias de hidrogénio; 4-bactérias homoacetogénicas; 5a-bactérias metanogénicas acetoclásticas; 5b-bactérias metanogénicas hidrogenofílicas; 6-bactérias sintetizadoras de ácidos orgânicos; (-----)-acção das bactérias sulfato-redutoras.

A **fase de hidrólise** é a primeira etapa do processo de degradação anaeróbia e consiste na desintegração de moléculas complexas em compostos mais simples. Compostos orgânicos complexos, tais como hidratos de carbono, proteínas e lípidos, são transformados em compostos solúveis mais simples, como aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos, através de enzimas extracelulares excretadas pelas bactérias facultativas. Nesta etapa, a solubilização de compostos insolúveis, tais como lenhina e material celulósico, constitui um dos passos limitante do processo de digestão anaeróbia. A hidrólise destes compostos influencia o nível de carbono necessário para a produção de ácidos orgânicos voláteis e biogás, assim como o tamanho das partículas, proporção de nutrientes e de material inerte. Para aumentar o rendimento desta produção, geralmente submetem-se os efluentes ricos em compostos insolúveis a um pré-tratamento (Annachhatre, 1996; Grobicki, 1997; Bhattacharyya *et al.*, 2008; Fuentes *et al.*, 2008).

Em termos microbiológicos, nesta etapa está envolvida uma grande diversidade de espécies de bactérias, que pertencem ao grupo trófico das bactérias hidrológicas aeróbias, anaeróbias facultativas ou estritamente anaeróbias (Grobicki, 1997; O’Flaherty *et al.* 2006).

Na etapa seguinte - **acidogénese** - os produtos originados durante a hidrólise, compostos solúveis de pequeno tamanho, são posteriormente degradados, por microrganismos acidogénicos, em ácidos orgânicos voláteis (AOV's), sendo os principais produtos o ácido acético, propiónico, butírico. Embora em pequenas quantidades, outros produtos da acidificação podem ser obtidos tais como álcoois, aldeídos e cetonas (Alexiou, 1998; Annachhatre, 1996; Fuentes *et al.*, 2008).

A população acidogénica representa cerca de 90% da população bacteriana total presente nos digestores anaeróbios e é constituída maioritariamente por bactérias fermentativas anaeróbias obrigatórias, sendo algumas anaeróbias facultativas. O número e a diversidade de espécies bacterianas acidogénicas envolvidas no processo de digestão anaeróbia dependem muito da composição do substrato (Mah e Sussman, 1968; Zeikus, 1980; Alves, 1998).

Os produtos resultantes desta etapa são fundamentais para o desempenho de todo o processo, pois podem afectar a eficiência e a estabilidade da metanogénese (Wang *et al.*, 2007).

A terceira etapa - **acetogénese** - constitui uma etapa importante sendo considerada como elo de ligação entre as fases iniciais da digestão e a fase final, que culmina com a produção de metano. Esta fase tem como objectivo produzir, a partir dos produtos formados na etapa anterior, os substratos necessários na metanogénese, nomeadamente acetato, dióxido de carbono e hidrogénio, por acção das chamadas bactérias sintróficas ou produtoras obrigatórias de hidrogénio (OHPA - *obligate hydrogen producing acetogens*) (O' Flaherty *et al.*, 2006; Fuentes *et al.*, 2008).

Em condições normais estas transformações são termodinamicamente desfavoráveis, só sendo possíveis com uma contínua remoção de hidrogénio. Geralmente, tal é assegurado pelas bactérias metanogénicas hidrogenotróficas ou, no caso de existir sulfato no meio, pelas bactérias sulfato-redutoras, por meio de um processo vulgarmente designado de "transferência de hidrogénio inter-espécies". Este processo, realizado por uma associação sintrófica de microrganismos produtores de hidrogénio que apenas crescem na presença de outros que consomem esse mesmo metabolito permite tornar a acetogénese termodinamicamente favorável (Ribeiro, 1999).

Como etapa final do processo de digestão anaeróbia encontra-se a *metanogénese*, que é a responsável directa pela produção de metano e constitui, em muitos casos, o passo limitante do processo anaeróbio. O metano é formado a partir da redução de  $H_2/CO_2$  e da descarboxilação do ácido acético (O' Flaherty *et al.*, 2006). De acordo com Solera (2002) aproximadamente 70% do metano provem do acetato.

As bactérias metanogénicas pertencem ao reino das *Arqueabactérias*, sendo este o grupo trófico especializado envolvido nesta última etapa, que metaboliza os produtos finais das reacções anteriores para formar metano. Dependendo do substrato fornecido pelas bactérias acidogénicas, as bactérias metanogénicas podem ser divididas em duas categorias, as bactérias hidrogenofílicas, que produzem metano a partir de redução de  $H_2$  e  $CO_2$  e as bactérias acetoclásticas que a partir da descarboxilação do acetato geram metano. As bactérias acetoclásticas são consideradas a espécie mais importante que intervêm nesta etapa, enquanto as bactérias hidrogenofílicas são caracterizadas por controlar o potencial redox do meio, mantendo a concentração de hidrogénio em níveis baixos, condicionando a Acetogénese sintrófica. Este último grupo trófico inclui um elevado número de espécies dentro de 5 ordens no reino *archaea*. (van Haandel e Lettinga, 1994; Gerardi, 2003; Pereira, 2003; O' Flaherty *et al.*, 2006).

### 3.2 INFLUÊNCIA DE FACTORES AMBIENTAIS NA ACIDOGÉNESE

A degradação anaeróbia exige um controle rigoroso das condições ambientais a fim de garantir a sua eficiência e estabilidade. É assim fundamental satisfazer as exigências ambientais dos microrganismos tais como, nutrientes, temperatura, pH, ou pelo menos, garantir que estes parâmetros ambientais se mantenham dentro de valores que não comprometam significativamente o processo biológico. Por outro lado, é também importante assegurar que o processo não é afectado pela presença de substâncias que possam inibir a actividade microbiana.

Neste trabalho, é importante focar os factores ambientais que mais influenciam a fase acidogénica, ou seja, os que condicionam as actividades metabólicas das bactérias intervenientes nesse processo.

### 3.2.1 TEMPERATURA

A temperatura afecta directamente a actividade dos microrganismos revelando ser um dos factores que mais condiciona a digestão anaeróbia. No que diz respeito à actividade microbiana são normalmente consideradas três gamas de temperaturas: psicrófila (<20°C), mesófila (20-45°C) e termófila (>45°C). No entanto, esta diferenciação entre gamas poderá não ser tão clara no interior dos reactores, devido à existência de bactérias termotolerantes, que exibem actividade em zonas intermédias de temperatura (Carrondo, 1980; Lema *et al.*, 1991; Pohland, 1992).

A temperatura mesófila tem sido adaptada nos sistemas de tratamento por digestão anaeróbia devido ao seu desempenho operacional. Enquanto, a temperatura termófila é mais utilizada devido ao facto de permitir a destruição de microrganismos patogénicos e uma boa separação entre a fracção sólida e líquida (Kim *et al.*, 2002).

Vários estudos têm sido realizados para avaliar o efeito da temperatura no processo global da digestão anaeróbia, no entanto têm sido mais centralizados na influência deste parâmetro na fase metanogénica, fase que é limitante em termos cinéticos, sendo menor a atenção dispendida para com a fase acidogénica (Yu & Fang, 2003).

Num processo anaeróbio tendo como objectivo a acidificação, a operação a temperaturas termófilas possibilita a obtenção de maiores taxas de ácidos. Segundo Wang *et al.* (2006), os processos termófilos geram elevadas concentrações de propionato e diminui a degradação pelos microrganismos acetogénicos. Parkin e Owen (1986) referem igualmente que, temperaturas elevadas favorecem as concentrações inibitórias de agentes tóxicos da metanogénese.

Yu *et al.* (2002) estudaram a influência da temperatura na acidogénese de um efluente de lacticínios em dois reactores UASB. Para as temperaturas testadas (37°C e 55°C) e a pH constante (5,5) não observaram diferenças ao nível do grau de acidificação atingido, nem em termos de remoção da carência química de oxigénio para nenhuma das cargas orgânicas testadas (4 a 24 gCQO/L.dia). Yu e Fang (2003) estudaram a acidificação de efluentes ricos em proteínas, utilizando um efluente sintético à base de gelatina e chegaram à conclusão que a eficiência de degradação da gelatina e o grau de acidificação atingidos eram ligeiramente favorecidos pelo aumento de temperatura (20°C para 55°C), aumento esse de 9% na eficiência de degradação e de 21% no grau de acidificação. Contudo os

autores concluíram que o efeito do parâmetro temperatura não era relevante quando comparado com a influência de pH no processo de acidificação. Ao aumentar o pH (4 para 7), à temperatura de 37°C, verificaram o aumento de 63% relativamente à eficiência de degradação da gelatina e de 116% em relação ao grau de acidificação atingido. Estes resultados não corroboram os estudos de Alexiou & Anderson (2001) que avaliaram a acidificação de efluentes de café numa gama de temperaturas de 37°C a 65°C (pH=4,5). Estes autores concluíram que o aumento da temperatura não melhorava o grau de acidificação atingido e que a 55°C o grau de acidificação diminuía em cerca de 42%.

Em suma, para processos acidogénicos o parâmetro temperatura não parece ser tão relevante como o é nos processos anaeróbios convencionais (com biometanização) e os estudos analisados indicam também que o efeito da temperatura está relacionado com o pH e o tipo de efluente (substrato) em estudo.

### **3.2.2 PH E ALCALINIDADE**

As reacções que ocorrem no processo de digestão anaeróbia são extremamente dependentes dos valores de pH. De acordo com Guerreiro *et al.* (1999), o valor final de pH depende das condições ambientais impostas ao reactor e da natureza do efluente.

As bactérias metanogénicas são as mais sensíveis a variações de pH, em que os valores de pH óptimo se situam entre 6,8 e 7,2. As bactérias acidogénicas elegem valores de pH ácido e são muito toleráveis a variações de pH. Os valores de pH podem baixar de alcalino para ácido através da produção de CO<sub>2</sub> e ácidos orgânicos. Um valor de pH muito baixo pode contribuir para a cessação do processo de digestão anaeróbia (Delée *et al.*, 1998; Rajeshwari *et al.*, 2000).

Num processo anaeróbio tendo como objectivo a acidificação os valores de pH devem situar-se abaixo de 6,8, de modo a proporcionar a acumulação de AOV's. Na prática, isto significa que a produção de ácidos num reactor pode continuar livremente apesar da produção de metano ter sido interrompida devido aos baixos valores de pH (Van Haandel e Lettinga, 1994; Chernicharo, 1997; Yu & Fang, 2002; Rajeshwari *et al.*, 1999).

Yu e Fang (2002) avaliaram a acidogénese de efluentes lácteos num intervalo de pH de 4 a 6,5 ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ) e constataram que mesmo para valores extremos de pH ( $\text{pH}=4$ ) a acidificação do efluente à base de hidratos de carbono, proteínas e lípidos processava-se atingindo-se eficiências de conversão dos compostos poluentes, na ordem dos 69%, 34% e 16%, respectivamente. Concluíram também que o pH tem um efeito relevante na distribuição dos produtos da acidificação, sendo favorecida a produção de acetato e butirato para  $\text{pH} > 5,5$  e a de propionato a  $\text{pH} < 5,5$ . Os mesmos autores (Yu e Fang, 2003) estudaram a acidificação de efluentes com outro tipo de substrato (efluente rico em proteínas), utilizando um efluente sintético à base de gelatina, para uma gama de valores de pH de 4 a 7. Concluíram também que para este tipo de substrato, o pH influencia significativamente a distribuição dos produtos da acidificação, sendo favorecida a produção de acetato e butirato para  $\text{pH} > 6,0$  e a de propionato a  $\text{pH} < 5,0$ .

Outros estudos (Zoetemeyer *et al.*, 1982; Attal *et al.*, 1986; Horiuchi *et al.*, 2002) dão conta da influência do pH, não tanto como aspecto inibidor do processo de acidificação de substratos, mas como condicionador da distribuição dos produtos resultantes da acidificação. Fang e Liu (2002) estudaram a influência do pH na acidificação da glucose e concluíram que a produção de propionato é suprimida para valores baixos de pH por inibição das bactérias produtoras de propionato, enquanto as bactérias produtoras de butirato são tolerantes a valores baixos de pH e por isso a sua produção é favorecida nessas condições.

Resumindo, a influência do pH do meio no processo de acidificação anaeróbia parece depender da composição inicial do substrato a degradar.

### 3.2.3 NUTRIENTES

Os processos anaeróbios caracterizam-se por uma baixa produção celular, pelo que as necessidades em termos de nutrientes são, consequentemente baixas, em comparação com sistemas aeróbios (Alexiou, 1998).

A informação disponível na literatura, acerca dos requisitos nutricionais para o processo de digestão anaeróbia é escassa e, quando existente é direccionada para a metanogénese, uma vez que esta é a etapa limitante do processo.

Os nutrientes de maior importância para a população microbiana anaeróbia são o azoto (N) e o fósforo (P). A principal fonte de azoto nos efluentes é o ião amónio resultante da hidrólise de proteínas ou da ureia. Quando a quantidade de fósforo não for suficiente, este pode ser adicionado ao processo na forma de ácido fósfórico ou sal de fosfato (Grobicki, 1997). Para além destes nutrientes, outros elementos, em quantidades vestigiais, são requeridos para o devido crescimento celular, como o ferro, manganésio, molibdénio, zinco, cobre, cobalto, selénio, tungsténio e níquel (Pohland, 1992).

A estimativa das necessidades de azoto e fósforo pode ser obtida a partir da taxa de crescimento da população bacteriana e da sua composição celular (Speece e McCarty, 1964), assim utiliza-se a relação CQO/N/P. Henze & Haremoes (1983) sugerem razões CQO/N de 400/7 para sistemas a operar com cargas orgânicas mássicas elevadas (0,8 a 1,2 kgCQO/kgSSV.dia) e razões CQO/N bastante mais elevadas, da ordem de 1000/7, para sistemas a operar com carga orgânicas inferiores a 0,5 kg CQO/kg SSV.dia. Segundo Speece & McCarty (1964) a proporção mássica entre azoto e fósforo deverá ser aproximadamente 7.

### **3.3 APLICABILIDADE DA FASE ACIDOGÉNICA**

Como já foi referido anteriormente, a estrutura reaccional da digestão anaeróbia é caracterizada por 4 sequências principais de degradação (hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese), interligadas entre si pela existência de diferentes grupos tróficos de bactérias que se desenvolvem em consórcio, de forma equilibrada e coordenada (O.Flaherty *et al.*, 2006).

No entanto a comunidade científica apercebeu-se que a etapa acidogénica favorece alguns grupos tróficos (como os microrganismos acidogénicos), mas é inibitória para outros (microrganismos metanogénicos), pondo em causa o correcto funcionamento dos sistemas



anaeróbios. Como resultado, surgiu o processo de digestão anaeróbia em duas etapas: 1ª etapa, pré-tratamento, associada à hidrólise/acidogénese e a 2ª etapa associada à acetogénese/metanogénese (Fang & Yu, 2002; Yang *et al.*, 2003).

Os grupos tróficos intervenientes no processo de digestão anaeróbia diferem consideravelmente uns dos outros, assim as condições que são favoráveis à acidogénese (baixos TRH e baixos valores de pH) são inibidoras para os microrganismos metanogénicos. Para ultrapassar estes problemas alguns autores propuseram a separação física dos microrganismos intervenientes na primeira fase da digestão anaeróbia (hidrólise/acidogénese), dos microrganismos intervenientes na segunda fase (acetogénese/metanogénese).

A separação em duas fases, relativamente ao desenvolvimento do processo de digestão anaeróbia num só reactor (como uma só fase), permite proporcionar as condições necessárias aos diferentes grupos de microrganismos, como aumentar a estabilidade do processo, pois permite controlar a fase da acidificação de modo a prevenir excessos de cargas e o desenvolvimento de compostos tóxicos, que podem prejudicar as etapas seguintes e proteger os microrganismos metanogénicos dos choques de pH e de cargas aplicadas (Demirel e Yenigun, 2002; Demirel e Chen, 2005; Demirel *et al.*, 2005).

Ao considerar a acidogénese como uma primeira etapa da digestão anaeróbia constituída pela fase de hidrólise e a própria fase da acidogénica, possibilita-lhe uma diversidade de aplicações biológicas sem ser referida exclusivamente como mais uma etapa reaccional deste mecanismo.

A acidogénese pode assim ser utilizada como operação unitária interveniente num processo produtivo, exemplo do caso de estudo de seguida apresentado, em que a acidogénese é utilizada para a obtenção de substratos que podem servir para a produção de polihidroxialcanoatos (PHAs).

Por outro lado, nos últimos anos o estudo da fase acidogénica para produção de combustíveis alternativos aos fósseis tem crescido exponencialmente, em particular no que diz respeito à produção de hidrogénio (Cheong & Hansen, 2006). Sendo H<sub>2</sub> um dos produtos resultantes da acidificação anaeróbia, o interesse pelo estudo deste mecanismo bioquímico, no sentido de definir condições óptimas para aplicação a uma produção

biológica de H<sub>2</sub> à escala industrial, tem igualmente aumentado (Lin & Chang, 1999; Cheong *et al.*, 2007; Kyazze *et al.*, 2007; Ren *et al.*, 2007;).

Sem querer deixar de referir a aplicabilidade da acidogénese como pré-tratamento de efluentes como fase de pré-tratamento que possa anteceder a um tratamento biológico aeróbio.

### **3.3.1 ACIDOGÉNESE NA PRODUÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS (BIOPLÁSTICOS)**

A produção de biopolímeros é supracitada em grande parte dos estudos como um processo de duas etapas distintas, a selecção da cultura e acúmulo de PHA (Dionisi *et al.*, 2004; Serafim *et al.*, 2004; Lemos *et al.*, 2006).

No entanto, alguns estudos recentes relatam a produção de biopolímeros num processo de três etapas, em que a acidogénese precede à selecção da cultura e à acumulação de PHA. O interesse pelo estudo da etapa acidogénica para a produção de PHAs surgiu a partir do momento que se apercebeu que os ácidos orgânicos voláteis (AOV's) produzidos durante esta etapa são os melhores substratos para a produção de PHAs. Como resultado, a acidogénese anaeróbia tem despertado a atenção como operação unitária de um processo industrial produtivo, podendo ser aplicada como pré-tratamento adequado para a produção de PHAs (Bengtsson *et al.*, 2007).

Albuquerque *et al.* (2007), investigaram a utilização do melaço de cana de açúcar para a produção de PHA's utilizando um processo de três passos. Compreendendo em primeiro a fermentação acidogénica do melaço, seguido da selecção de uma cultura de PHAs acumulados em condições de excesso e escassez, e por fim a produção de PHA num sistema batch. Um processo de três etapas para a produção de PHA foi também desenvolvido por Bengtsson *et al.* (2007) utilizando um efluente de uma fábrica de papel fermentado e incluindo esse efluente fermentado na cultura seleccionada.

Dionisi *et al.* (2005), apresentaram também um processo de três passos, usando efluentes de uma fábrica de azeite, propondo a produção de PHA a partir do efluente fermentado, seguido de uma cultura enriquecida com ácidos orgânicos e por fim o acúmulo de PHA.

A acidogénese converte a matéria orgânica a AOV's que são acumulados em bactérias e posteriormente são convertidos a monómeros de PHA. As tão desejadas propriedades físicas e mecânicas dos PHA dependem do monómero que o constitui, como foi anteriormente referido. Por sua vez os monómeros derivam do tipo de AOV's consumidos para a sua produção. Segundo Dionisi *et al.* (2005), os monómeros HB são formados principalmente a partir de AOV's contendo um número par de átomos de carbono (ácido acético e ácido butírico), e os monómeros HV a partir de AOV's contendo um número ímpar de átomos de carbono (ácido propiónico e ácido valérico) (Bengtsson *et al.*, 2007; Salmiati *et al.*, 2007).

De forma a exemplificar os estudos que têm sido realizados neste âmbito, apresenta-se os trabalhos desenvolvidos por Dionisi *et al.* (2005) que analisam a capacidade de um efluente de uma fábrica de azeite converter a matéria orgânica em AOV's durante a acidogénese e determinam correspondente a taxa de produção de PHA's.

Na etapa da acidogénese o efluente foi estudado sem e com três diferentes pré-tratamentos (centrifugação, adição de bentonite e adição de bentonite seguido de centrifugação). A fase de produção de PHA foi investigada em culturas mistas enriquecidas com ácidos orgânicos voláteis (AOV's) e as taxas de produção e composição do polímero biodegradável foram investigadas, em comparação com substratos sintéticos aclimatados à biomassa enriquecida.

Tendo em conta os resultados experimentais obtidos, Dionisi *et al.* (2007) concluíram que o efluente, sem pré-tratamento e com adição de bentonite, produziu uma quantidade significativa de AOV's, nomeadamente ácido acético (47%), butírico (22%), propiónico (10%), valérico (4%). Quando este efluente foi centrifugado a produção de ácido butírico aumentou (47%), o oposto foi observado para ácido acético (32%), propiónico (10%) e valérico (2%). Confirmando o efeito negativo que centrifugação, que altera os compostos que estão disponíveis para fermentação acidogénica e consequentemente a composição dos polímeros produzidos na etapa subsequente, nomeadamente na percentagem de monómeros HV no copolímero P(HB-HV).

Concluíram que a fermentação é eficaz na produção de AOV's, que apesar de predominar os ácidos com número par (ácido acético ou butírico), esta aumentou a produção de ácidos de número ímpar de átomos de carbono (ácido propiónico e valérico) e consequente

aumento do teor de HV. Verificando-se a formação do monómero HV no copolímero P(HB-HV) que melhora as propriedades térmicas e mecânico do copolímero P(HB-HV)

No que diz respeito á centrifugação com fermentação, demonstrou ser o melhor pré-tratamento para a produção dos substratos para a produção de PHA, aumentando o rendimento da fermentação para 36%. A fermentação foi, portanto, um passo muito importante na melhoria do desempenho global do processo.

Embora este estudo apresente valores máximos inferiores aos relatados na literatura para culturas puras, os autores realçam que de facto da concentração final de PHA ser muito elevada (0,54 gPHA/gVSS), merecendo este aspecto atenção, a fim de maximizar o conteúdo de PHA, diminuir a extracção e os custos de recuperação.

## 4 OBJECTIVO DA TESE

A questão central deste trabalho resulta da problemática ambiental da disposição de matéria orgânica em aterro que actualmente é proibida pela Directiva Aterros. Por outro lado, está também associada à dependência actual de combustíveis fósseis para a produção de plásticos, à problemática da sua deposição e as crescentes preocupações ambientais relativas a plásticos não-degradáveis que têm resultado na investigação e desenvolvimento de materiais biopoliméricos amigos do ambiente.

Grande parte das indústrias gera efluentes líquidos com elevada carga orgânica, devido à natureza das matérias-primas e dos processos utilizados. Em particular, a indústria de lacticínios produz efluentes complexos e com elevada carga poluente, que requerem um tratamento adequado. Esse tratamento é realizado geralmente, por processos biológicos, não só devido à sua viabilidade técnica e simplicidade como por questões económicas.

Neste contexto, este tipo de processo possibilita que efluentes que constituem fontes de poluição possam ser aproveitados como exploração de recursos, originando produtos passíveis de serem utilizados como matéria-prima noutros processos (nomeadamente produção de biopolímeros).

Os biopolímeros têm adquirido grande importância, não só por serem totalmente degradáveis, como pela sua aptidão a serem produzidos a partir de recursos renováveis. A produção de biopolímeros tem a acidogénese como a primeira de três fases, na qual os ácidos orgânicos voláteis (AOV's) formados são considerados o melhor substrato para a sua produção. Com principal destaque para o ácido acético, propiónico, butírico e velérico, uma vez que são os que melhores propriedades termoplásticas conferem aos biopolímeros, aproximando-os do poliprolileno (Dionisi *et al.*, 2007; Bengtsson *et al.*, 2008).

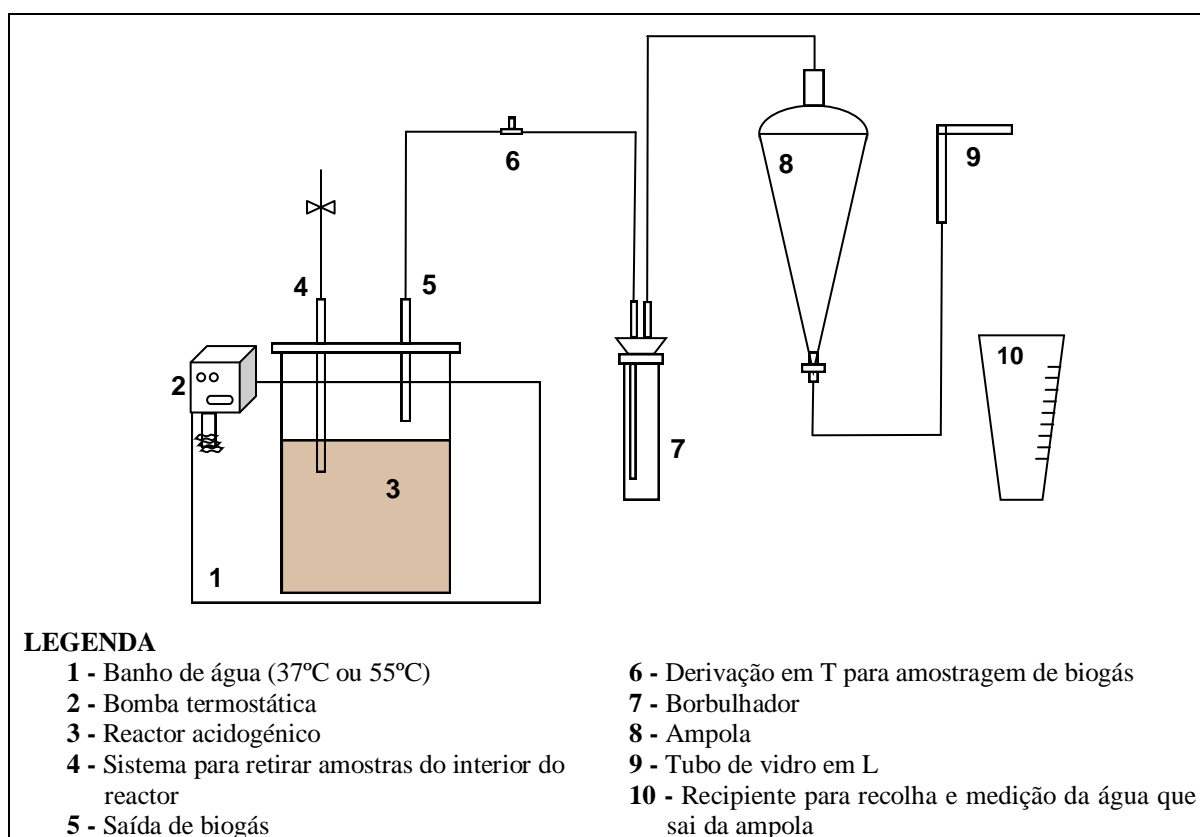
Assim, com o desenvolvimento deste trabalho pretende-se estudar a aplicabilidade das lamas gordas de efluentes de lacticínios na produção de biopolímeros, tendo em conta que a fermentação acidogénica, nomeadamente, a produção de AOV's.

Com o objectivo de otimizar a produção de AOV's, em particular os que melhor se adequam para a produção de biopolímeros, foram operados dois reactores acidogénicos (um alcalino e outro a pH igual às lamas), numa gama mesofílica e uma gama termofílica, aos quais foram aplicadas cargas orgânicas de uma forma crescente.

## 5 REALIZAÇÃO EXPERIMENTAL

### 5.1 DESCRIÇÃO DA MONTAGEM EXPERIMENTAL

A figura 8 representa o esquema da instalação laboratorial utilizada.



**Figura 8** - Representação esquemática da instalação laboratorial.

Para a realização deste trabalho experimental foram utilizados reactores de vidro com um volume útil de 5 litros, como mostra a figura 9. Na figura 10 encontra-se uma imagem da instalação experimental utilizada.



**Figura 9** – Imagem do reactor usado.



**Figura 10** – Imagem da instalação experimental.

De modo a garantir a temperatura de operação dos reactores (35°C ou 55°C), durante os ensaios estes foram mantidos submersos num banho de água aquecido por uma bomba termostática, ver figura 8.

O biogás produzido foi conduzido, por uma tubagem de teflon inserida no topo do reactor, a um borbulhador. Após passar o borbulhador, o gás produzido deslocava um volume de água retido numa ampola, permitindo contabilizar, desta forma, o volume de biogás produzido. A tubagem de saída do biogás possuía um sistema de amostragem logo após a saída do reactor que era constituído por uma derivação em T selada por um septo de borracha, permitindo a recolha, com uma seringa, de amostras para análise de biogás.

## **5.2 CONDIÇÕES DE ARRANQUE E OPERAÇÃO DOS REACTORES**

Cada ensaio realizado em dois reactores sendo que a única diferença entre eles era a alcalinidade, um reactor era alcalino, R1 e o outro não, R2. Sendo operados como reactores descontínuos acidogénicos. Os cinco primeiros ensaios foram operados numa gama mesofílica (35°C  $\pm$  1°C) e os últimos dois (ensaio 6 e 7) numa gama termofílica (55°C  $\pm$  1°C).



Aquando do início do trabalho experimental foi realizado um primeiro ensaio (ensaio 1) de adaptação das lamas DAF (lamas gordas) à biomassa, lamas biológicas. Cada ensaio corresponde à aplicação de uma nova carga orgânica, que foi feita sempre que o comportamento dos reactores evidenciava ter atingido o fim da produção de biogás.

O plano do trabalho experimental encontra-se sintetizado na Tabela 8.

**Tabela 8** - Plano do trabalho experimental.

ENSAIOS	Lamas biológicas [g SST/L]	Carga [g CQO/L]	Alcalinidade	Temperatura [°C]	Azoto
1	R1 R2	5	S N	35	S
2	R1 R2	5	S N	35	S
3	R1 R2	10	S N	35	N
4	R1 R2	15	S N	35	S
5	R1 R2	30	S N	35	S
6	R1 R2	10	S N	55	S
7	R1 R2	30	S N	55	S

No início de cada ensaio, após a introdução da quantidade de biomassa desejada em cada reactor, adicionou-se também o volume de lamas de DAF pré-determinado. Cada reactor foi também suplementado com macro e micro nutrientes (5 mL de cada solução da tabela 10, ou seja, 1mL por cada litro de volume reaccional) e apenas a um dos reactores (R1) foi também adicionado alcalinidade (5 gNaHCO<sub>3</sub> e 5 gKHCO<sub>3</sub>, ou seja, 1g por cada litro de volume reaccional). Por fim os dois reactores foram aferidos até aos 5L, sendo que no ensaio 1 foi utilizada água da rede e nos restantes o respectivo sobrenadante removido no fim do ensaio antecedente. O conteúdo dos dois reactores foi borbulhado com azoto gasoso

durante aproximadamente 3 minutos para impor condições anaeróbias e imediatamente selado com uma tampa de vidro esmerilada dando início ao ensaio.

Durante os ensaios os reactores foram homogeneizados diariamente por agitação manual.

Aquando do início do ensaio 4 houve a necessidade de confirmar o teor médio de biomassa em cada reactor, 5 gSSV/L, ver tabela 9.

**Tabela 9** - Teor médio de microrganismos em cada reactor no início do 4º ensaio.

	R1	R2
Microrganismos [gSSV/L]	4,99	4,96

**Tabela 10** - Composição das soluções de nutrientes.

Solução I - Micromutrientes	
Composto	Concentração [mg/]
FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	2454
CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	2000
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	500
CuCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	30
ZnCl <sub>2</sub>	50
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	50
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> . 4H <sub>2</sub> O	90
EDTA	1000
NiCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	50

Solução II – Macronutrientes 1	
Composto	Concentração [mg/L]
NH <sub>4</sub> Cl	170
KH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub>	37
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	8
MgSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	9

### 5.3 MONITORIZAÇÃO DA OPERAÇÃO DOS REACTORES

De forma a controlar o desempenho dos reactores, ao longo do período de operação e no final, foram monitorizados vários parâmetros de acordo com a periodicidade apresentada na tabela 11.

**Tabela 11** – Plano de monitorização de cada reactor.

Parâmetros	Periodicidade de amostragem		Ponto de amostragem
<b>AOV's</b>	Início		
	Durante	1 vez por dia	Interior do reactor
	Final		
<b>Biogás</b>	Início	Variável (1 a 3 vez por dia)	
	Durante	3 vezes por dia	Linha de biogás (saída do reactor)
	Final	1 vez por dia	
<b>CQO total</b>	No fim	1 vez	Sobrenadante e todo o conteúdo do reactor
<b>CQO solúvel</b>	No fim	1 vez	Sobrenadante e todo o conteúdo do reactor

### 5.4 PARÂMETROS DE CONTROLO

As metodologias utilizadas para quantificar os parâmetros analíticos apresentados na tabela 11 são de seguida apresentadas. As análises da CQO, SST e SSV foram sempre realizadas em triplicado, considerando depois a média dos valores.

#### 5.4.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (AOV's)

Os Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's) foram determinados por cromatografia gás líquido, através de um cromatógrafo (marca Chrompack, modelo CP9001) apresentado na figura 11, com detector de ionização de chama (FID). Na tabela 12 são apresentadas as condições de operação deste aparelho.



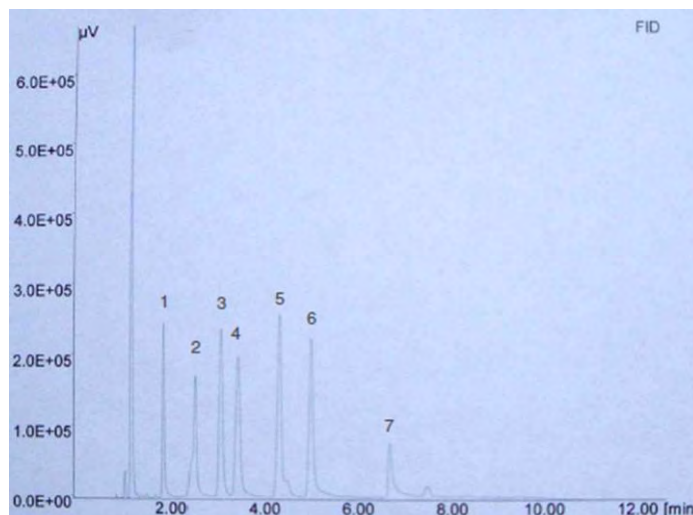
**Figura 11** – Cromatógrafo utilizado na análise dos AOV's.

**Tabela 12** – Características de operação do cromatógrafo gás-líquido.

Características		Condições
Gases	Tipo	Hélio (gás de arraste)
	Caudal	8 mL/min
Coluna (características)		Coluna CP-sil5-CB (25m x 0,53 mm x 5 µm)
Temperaturas	Coluna	290°C
	Injecção	270°C
	Detector	300°C
Tempo de corrida		12,70 min
Software de integração		Jasco-Boewin (1998), versão 1.50
Volume de amostra		0,5 µL

As amostras utilizadas para análise dos AOVs foram previamente filtradas, acidificadas com ácido fórmico (1:10 (v/v)) e refrigeradas a 4°C em frascos de polietileno, até serem analisadas.

No cromatograma é possível identificar e quantificar a composição de sete ácidos orgânicos voláteis (acético, propiónico, iso-butírico, n-butírico, isovalérico, n-valérico e n-capróico). Na figura 12 encontra-se representado um exemplo de um cromatograma.



**Figura 12** – Exemplo de um cromatograma obtido na análise de uma amostra de AOV's.  
1-ácido acético; 2-ácido propiónico; 3-ácido isobutírico; 4-ácido n-butírico; 5-ácido isovalérico; 6-ácido n-valérico; 7-ácido n-capróico.

Após calibração do aparelho com padrões mistos de concentração conhecida, é estabelecida uma relação entre a área de cada pico do cromatograma e a concentração de AOV correspondente, possibilitando desta forma a identificação e quantificação de cada AOV. A cada padrão foi adicionado ácido fórmico na proporção de 1:10 (v/v), de forma a permitir que a matriz dos padrões fosse idêntica à matriz das amostras.

#### 5.4.2 COMPOSIÇÃO DO BIOGÁS

A composição do biogás foi determinada por cromatografia gasosa num cromatógrafo gasoso, da marca SRI, modelo 8610 C, equipado com um detector TCD (Thermal Conductivity Detector), apresentado na figura 13. Este equipamento forneceu valores relativamente à percentagem (v/v) de metano ( $\text{CH}_4$ ), de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e de outros componentes gasosos ( $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , etc.).



**Figura 13** – Cromatógrafo gasoso com detector de condutividade térmica (TCD).

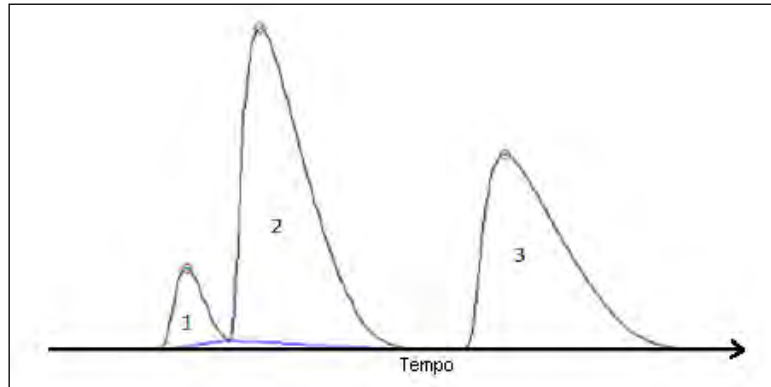
Na tabela 13 estão apresentadas as condições de operação do cromatógrafo.

**Tabela 13** – Condições de operação do cromatógrafo gasoso.

Características		Condições
Gases	Tipo	Hélio (gás de arraste)
	Caudal	10 mL/min
Coluna (características)		Stainless Steel Packed Column, Haysep Q, 2,5mx2,1mm ID
Temperatura de corrida		60-61°C
Tempo de corrida		10 min
Software de integração		Peak Simple (2004), versão 3.29
Volume de amostra		1 mL

Como é possível ver na figura 14, no cromatograma é possível identificar 3 picos aos quais corresponde:

1. Outros componentes gasosos ( $N_2$ ,  $H_2$ ,  $H_2S$ , etc.);
2.  $CH_4$ ;
3.  $CO_2$ .



**Figura 14** – Exemplo de um cromatograma obtido na análise de uma amostra de biogás.

O aparelho foi calibrado com padrões gasosos de composição conhecida (100% CO<sub>2</sub> e 100% CH<sub>4</sub>), usando um padrão misto com uma mistura gasosa de 70% CH<sub>4</sub> e 30% CO<sub>2</sub>. Para converter a área de cada pico do cromatograma em % de composição de composição de gás, foram usadas as seguintes relações obtidas pela calibração:

$$\%CH_4 = \left[ \left( 0,009706 \times \left[ \frac{\text{Área } CH_4}{\text{Área total}} \right] \times 100 \right) + 0,0311 \right] \times 100\%$$

$$\%CO_2 = \left[ \left( 0,010192 \times \left[ \frac{\text{Área } CO_2}{\text{Área total}} \right] \times 100 \right) - 0,0165 \right] \times 100\%$$

#### 5.4.3 CARÊNCIA QUÍMICA DE OXIGÉNIO (CQO)

O valor da Carência Química de Oxigénio (CQO) é uma medida do oxigénio equivalente à fracção orgânica da amostra susceptível de ser oxidada por um oxidante químico energético, em condições controladas.

Para determinação deste parâmetro foi utilizado o método do refluxo fechado com determinação por espectrofotometria (método 5520 D descrito em APHA (1998)), para quantificar a CQO das amostras analisadas. Neste método foi utilizado o dicromato de potássio (numa quantidade em excesso, em condições ácidas) como oxidante, devido a sua

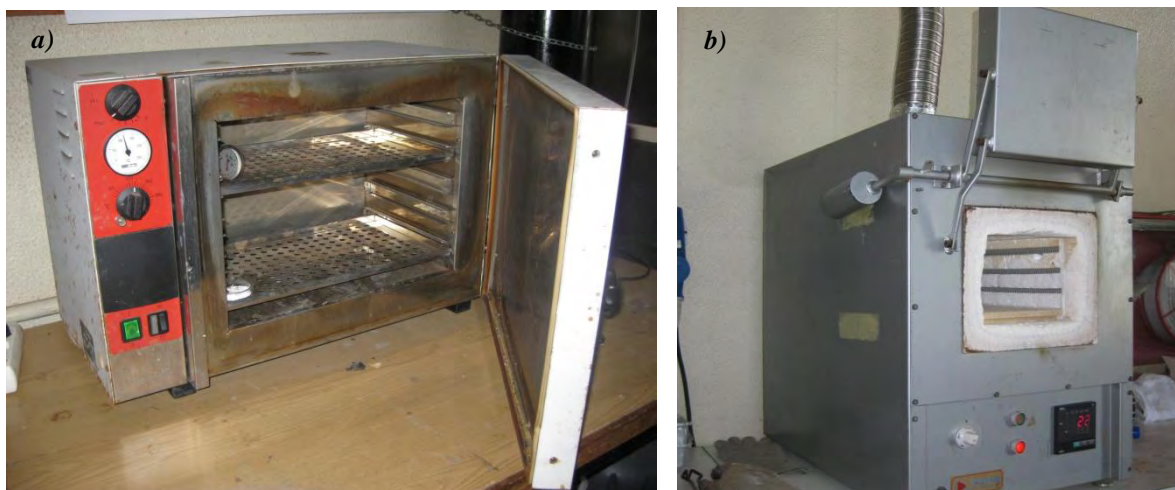
maior capacidade de oxidação, aplicabilidade a uma grande variedade de amostras e facilidade de manipulação. A maioria dos compostos orgânicos é oxidada a 95% - 100% do valor teórico.

A digestão foi realizada durante duas horas, a 150°C e a amostra continha dicromato de potássio, juntamente com ácido sulfúrico (de forma proporcionar condições ácidas), sulfato de prata (para oxidar os álcoois e ácidos de cadeia longa) e sulfato de mercúrio (para eliminar a interferência dos cloretos). Após a digestão das amostras, e arrefecimento até à temperatura ambiente, foi determinado por via espectrofotométrica a quantidade de dicromato de potássio que não reagiu. A absorvância das amostras digeridas foi medida utilizando um espectrofotómetro (marca Aqualytic, modelo PC023212), que converte as absorvâncias das amostras em concentração ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ). Quando se pretendeu estudar a carência química de oxigénio relativa a fracção filtrada (CQO solúvel), efectuou-se previamente a sua filtração com papel de filtro (marca Reeve Angel; grade 403).

#### **5.4.4 SÓLIDOS**

A quantificação de Sólidos Suspensos Totais (SST) e Voláteis (SSV) foi realizada segundo o método 2540 B e E respectivamente (APHA; 1998). O método contempla uma filtração de um volume conhecido de amostra com papel de filtro (marca Reeve Angel; grade 403) e posterior secagem na estufa a 105°C durante 24 horas para assim determinação dos sólidos suspensos totais, figura 15 *a*). Seguidamente, o mesmo filtro contendo a biomassa seca é calcinado na mufla a 550°C para determinação dos sólidos suspensos voláteis, figura 15 *b*). Os sólidos suspensos voláteis correspondem à biomassa (matéria orgânica) em suspensão contida na amostra, enquanto os sólidos suspensos totais representam a matéria orgânica e inorgânica em suspensão na amostra.





**Figura 15** – Aparelhos utilizados para a determinação de sólidos, a) Estufa, b) Mufla.

#### 5.4.5 pH

Este parâmetro foi medido com um aparelho portátil Consort C-515 acoplado a um eléctrodo de pH de xerolite. Antes de cada análise o aparelho era calibrado com soluções tampão (comerciais) de pH conhecido (pH=4 e pH=7).

### 5.5 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO EM ESTUDO

O efluente estudado neste trabalho é proveniente de uma Estação de Tratamento de Águas Industriais de lacticínios, Fromageries Bel Portugal, S.A. em Vale de Cambra.

A Fromageries Bel é uma multinacional, líder europeia na produção de queijo fundido e número um mundial em queijos de marca em porções. Actualmente está presente em mais de 100 países, em Portugal, o Grupo Bel adquiriu em 1996 a Lacto Ibérica, que passou a adoptar a denominação Fromageries Bel Portugal, S.A. a partir de Janeiro de 2004. Possui instalações industriais em Vale de Cambra, nos Açores (S. Miguel) em Ribeira Grande e Covoada, e instalações comerciais em Pedras Salgadas, Leça da Palmeira, Carregado e Lisboa.

A instalação industrial de Vale de Cambra é uma empresa de lacticínios que produz queijo, queijo fatiado, soro concentrado e, pontualmente, faz secagem de leite. A sua gama de produtos é constituída por marcas locais e internacionais, das quais se destacam: o Limiano e o Serra da Freita (queijo em bola) e fatiados de Limiano e Terra Nostra.

A ETAI da instalação industrial de Vale de Cambra, que funciona desde 1991, possui tratamento preliminar para a remoção de sólidos em suspensão e gorduras, denominado DAF. As características das lamas geradas pelo DAF encontram-se na tabela 14.

**Tabela 14** - Características das lamas de DAF geradas na instalação industrial de Vale de Cambra.

<b>Parâmetro</b>	<b>pH</b> [-]	<b>CQO<sub>t</sub></b> [mg/L]	<b>CQO<sub>s</sub></b> [mg/L]	<b>Sólidos</b> [mgSST/L]	<b>OG</b> [mg/L]
<b>Máximo</b>	8,7	6000	2500	680	94
<b>Mínimo</b>	7,3	900	430	233	24
<b>Média</b>	-	2200	1500	440	51

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No decorrer deste trabalho foi estudada a influência de variáveis tais como a alcalinidade (no mesmo ensaio), a carga orgânica (entre ensaios) e a temperatura (mesofílica [37°C] nos ensaios de 1 a 5 e termofílica [55°C] nos ensaios 6 e 7)

A exposição dos resultados será apresentada de acordo com a gama de temperaturas, primeiro os ensaios da gama mesofílica e por fim os da gama termofílica.

Ao longo de cada ensaio foi possível avaliar o comportamento dos reactores tendo em conta a sua evolução ao longo do tempo. O final de cada ensaio é identificado através de alguns parâmetros, especialmente o fim da produção de biogás.

### 6.1 RESULTADOS EXPERIMENTAIS DA GAMA MESOFÍLICA

#### 6.1.1 1º ENSAIO

Como já foi anteriormente referido, a realização deste ensaio teve como propósito a adaptação das lamas de DAF à biomassa. As características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas são apresentadas na tabela 15. Este ensaio decorre a uma temperatura de 37°C e as condições operacionais aplicadas a ambos os reactores encontram-se na tabela 16.

**Tabela 15** - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas no ensaio 1.

Parâmetro	Lamas de DAF				Lamas biológicas
	Sólidos [gSSV/L]	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	pH [-]	Sólidos [gSSV/L]
<b>Ensaio 1</b>	191,67	396,33	36,81	5,14	17,13

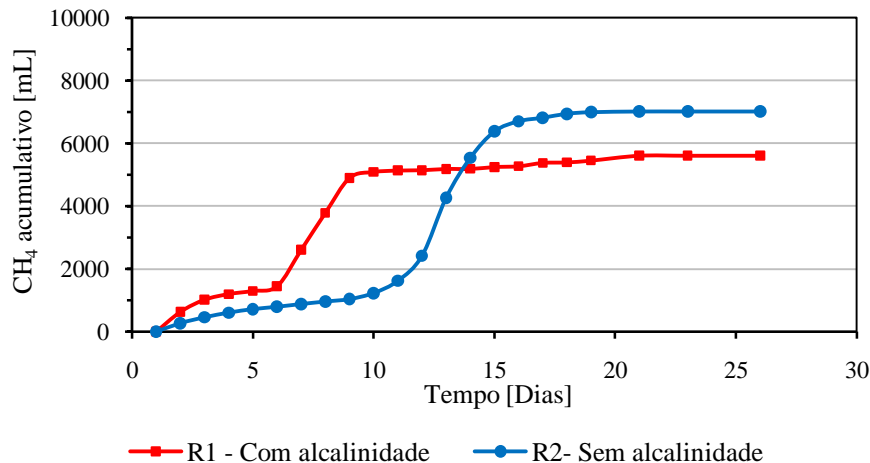
**Tabela 16** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 1 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas biológicas	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto [min]
	[gCQO/L]	[mL]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	
R1	5	1460	64	5	5	15	3
R2	5	1460	64	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano.

### Produção de metano

O volume de biogás foi contabilizado através do sistema anteriormente descrito, onde a água contida numa ampola é deslocada pelo gás produzido após a passagem deste por um borbulhador. A percentagem de metano (CH<sub>4</sub>) é obtida pela leitura no cromatógrafo gasoso (figura 13) e depois convertida em metano produzido, encontrando-se a quantidade de metano produzida representada no gráfico da figura 16.

**Figura 16** – Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=37°C.

Da observação do gráfico da figura 16 verifica-se que o reactor R2 (sem alcalinidade) é o que apresenta maior produção de metano. Apesar de até ao 13º dia o reactor R1 (com alcalinidade) apresentar uma produção superior o reactor R2, no final do ensaio, apenas produziu 5600 mL de metano enquanto o R2 produziu 7000 mL.

### 6.1.2 2ª ENSAIO

Como foi referido anteriormente este ensaio vem na continuação do anterior, sendo assim realiza-se a igual temperatura de 37°C, com igual carga e são utilizadas as mesmas lamas biológicas mas com novas lamas DAF. As suas características são apresentadas na tabela 17 e as condições operacionais do ensaio encontram-se na tabela 18.

**Tabela 17** – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 2.

Parâmetro	Lamas de DAF			
	Sólidos	CQOt	CQOs	pH
	[gSSV/L]	[g/L]	[g/L]	[-]
<b>Ensaio 2</b>	101,67	243,67	34,33	5,20

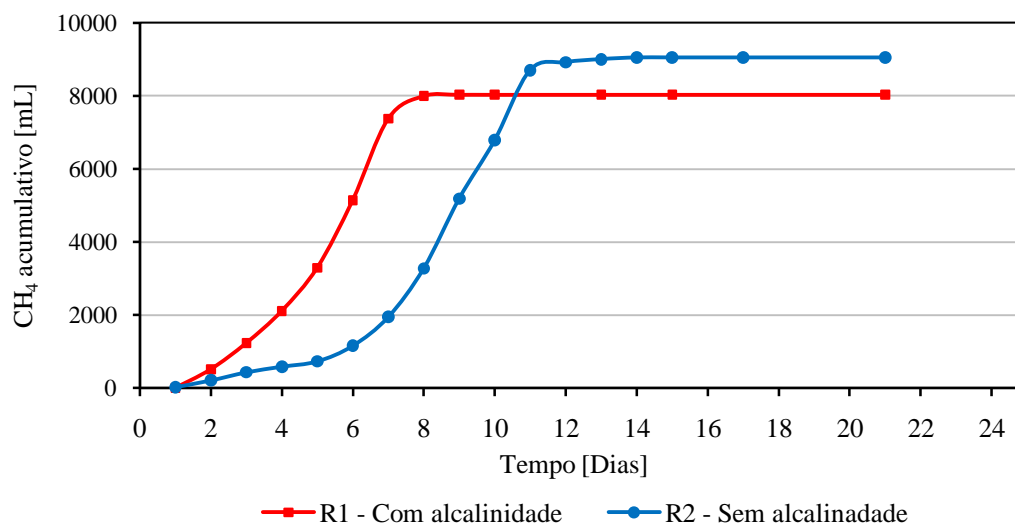
**Tabela 18** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 2 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	[min]
<b>R1</b>	5	103	5	5	15	3
<b>R2</b>	5	103	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

### Produção de metano

A quantidade de metano (CH<sub>4</sub>) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 17.

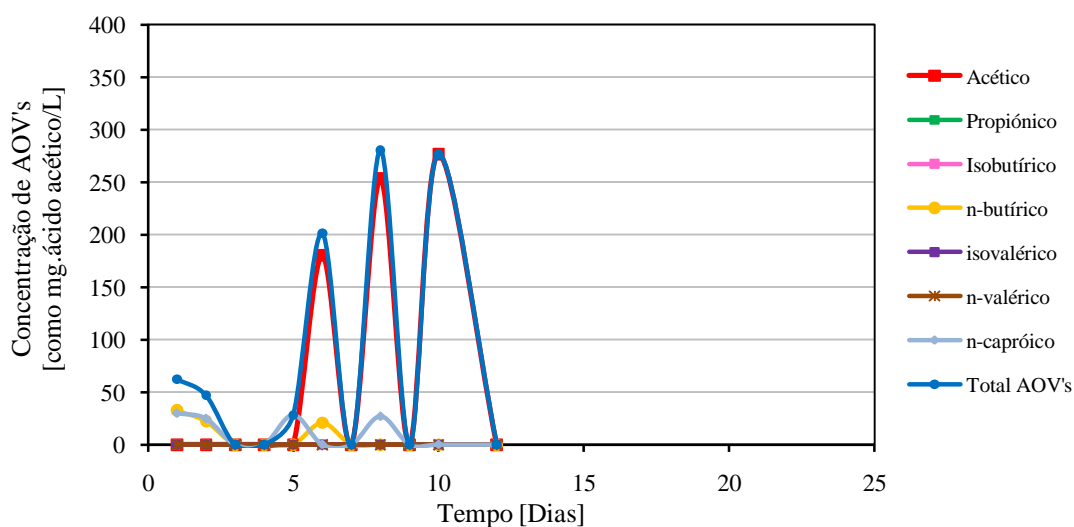


**Figura 17** - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e  $T=37^{\circ}\text{C}$

Da observação do gráfico da figura 17 verifica-se que a produção de metano começou por ser superior no reactor R1 (com alcalinidade), no entanto, no fim do ensaio, o reactor R2 (sem alcalinidade) apresenta uma produção de metano superior ao reactor R1, respectivamente a 9046 mL e 8031 mL de metano produzido.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

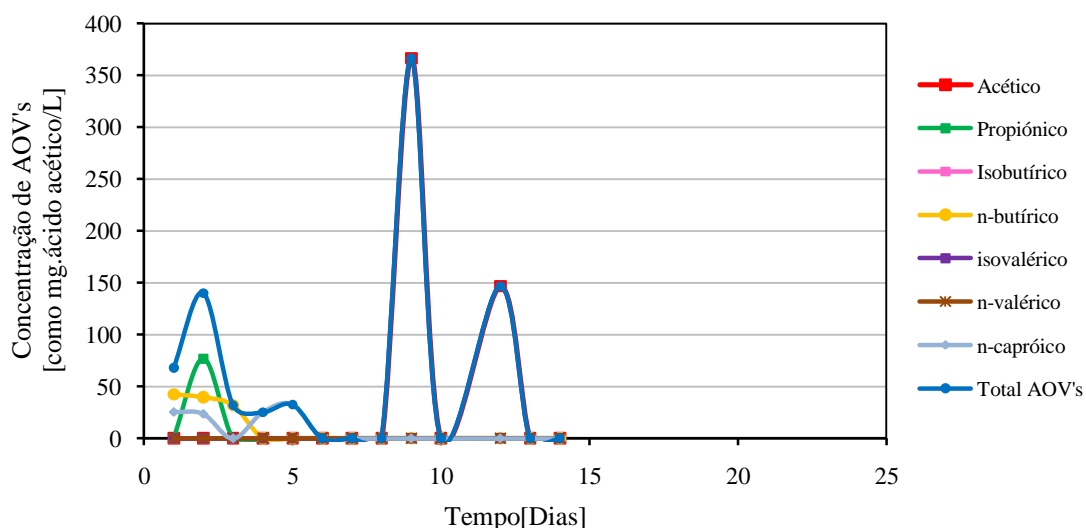
No gráfico da figura 18 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R1.



**Figura 18** - Evolução da concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e  $T=37^{\circ}\text{C}$ .

Pela análise do gráfico verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's. Inicialmente são identificados o ácido n-capróico e ácido n-butírico, em pequenas concentrações, aproximadamente 30 mgAc/L de cada um. Ao longo do ensaio é também identificado o ácido acético, verificando-se ser o AOV presente em maior quantidade. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 280 mgAc/L no 8º dia.

No gráfico da figura 19 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.



**Figura 19** – Evolução da concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 5gCQO/L e T=37°C.

Da observação do gráfico constata-se que no reactor R2 (sem alcalinidade) apenas apresenta alguns AOV's. Inicialmente são identificados o ácido propiónico, o ácido n-butírico e o ácido n-capróico em pequenas concentrações, num total de 140 mgAc/L. O ácido acético é também identificado ao longo do ensaio, verificando-se ser o AOV presente em maior quantidade. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 366 mgAc/L no 9º dia.

### 6.1.3 3ª ENSAIO

Este ensaio é realizado á mesma temperatura que o anterior, 37°C, e é aumentada a carga. São utilizadas as mesmas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características são apresentadas na tabela 19. As condições operacionais deste ensaio encontram-se na tabela 20. Aquando o início deste ensaio não havia azoto disponível, então foi operado na ausência deste.

**Tabela 19** – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 3.

Parâmetro	Lamas de DAF			
	Sólidos	CQOt	CQOs	pH
	[gSSV/L]	[g/L]	[g/L]	[-]
<b>Ensaio 3</b>	98,33	348,33	33,83	5,32

**Tabela 20** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 3 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

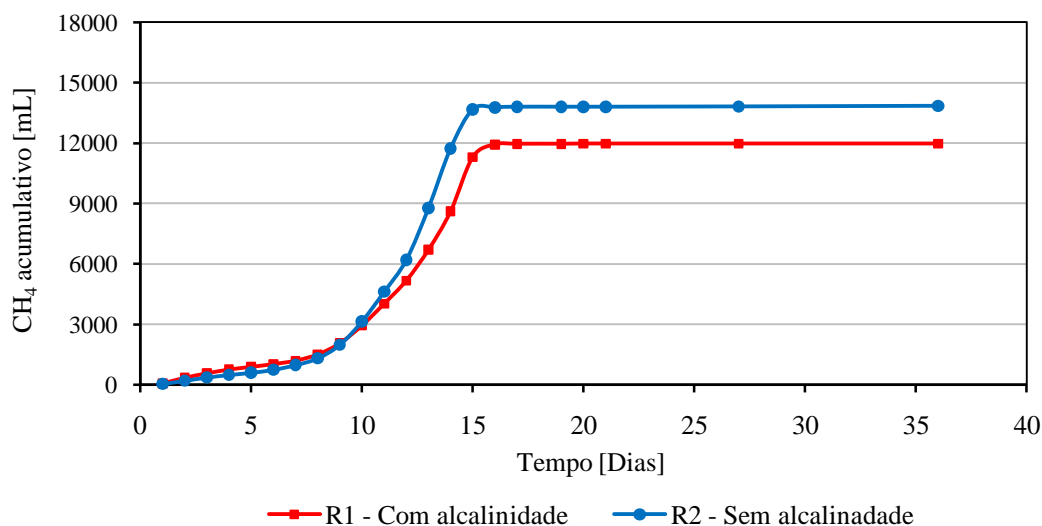
Reactores	Carga	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	[min]
<b>R1</b>	10	146	5	5	15	0
<b>R2</b>	10	146	0	0	15	0

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

#### Produção de metano

A quantidade de metano (CH<sub>4</sub>) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 20.



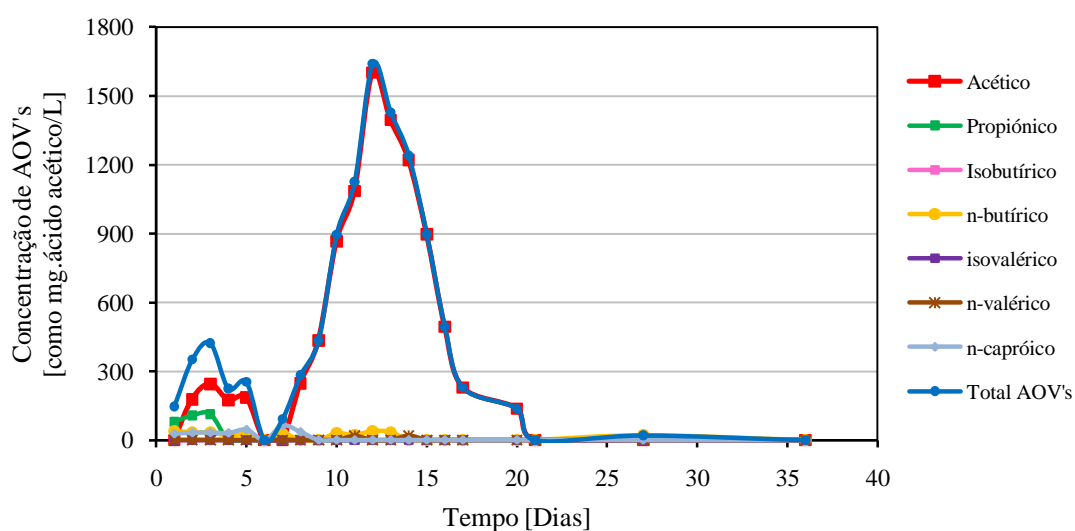


**Figura 20** - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°37°C

Da observação do gráfico da figura 20 verifica-se que a produção de metano começou por ser igual nos dois reatores. No entanto no fim do ensaio a produção de metano foi superior no reactor R2 (sem alcalinidade), produzindo cerca de 13851 mL de metano enquanto o reactor R1 (com alcalinidade) produziu apenas 11969 mL.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

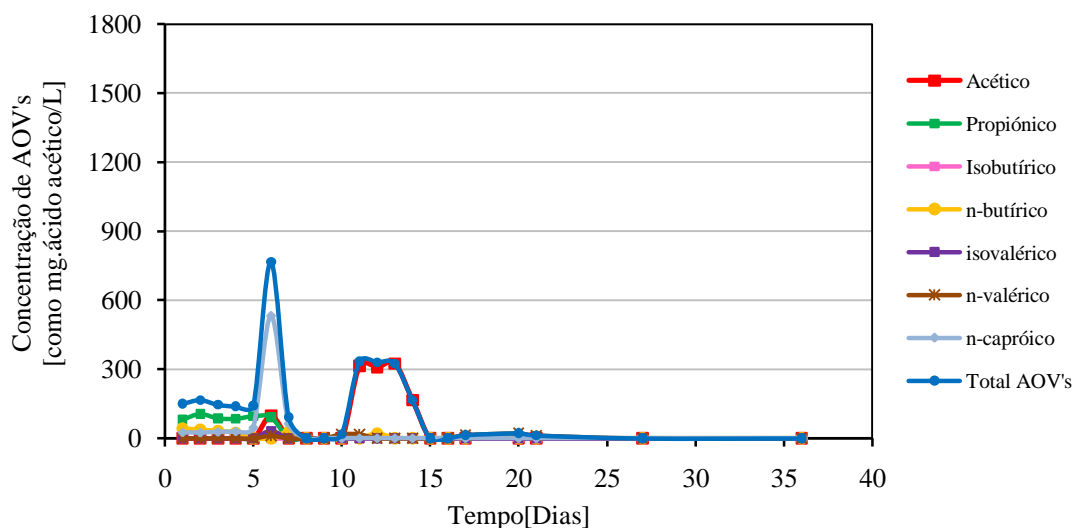
No gráfico da figura 21 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R1.



**Figura 21** - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=°37°C.

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's. Inicialmente são identificados o ácido acético e o ácido n-capróico em pequenas concentrações, num total de 422 mgAc/L. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade evidenciando-se desde 6º ao 21º dia. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 1640 mgAc/L no 12º dia.

No gráfico da figura 22 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.



**Figura 22** - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e T=37°C.

Pela análise no gráfico verifica-se que no reactor R2 (sem alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's. Inicialmente são identificados o ácido propiónico, o ácido n-butírico e o ácido n-capróico, em pequenas concentrações, durante o 1º e 6º dia. O ácido n-capróico apresenta elevada concentração no 5º dia, levando a concentração total de AOV's produzidos nesse dia a um máximo de 766 mgAc/L. O ácido acético é também identificado durante o 11º e o 13º dia.

#### 6.1.4 4º ENSAIO

Este ensaio é realizado também á mesma temperatura que o anterior, 37°C, e é também aumentada a carga. São utilizadas as mesmas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características são apresentadas na tabela 21. As condições operacionais deste ensaio encontram-se na tabela 22.

**Tabela 21** – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 4.

Parâmetro	Lamas de DAF			
	Sólidos	CQOt	CQOs	pH
	[gSSV/L]	[g/L]	[g/L]	[-]
<b>Ensaio 4</b>	88,33	387,83	57,33	5,22

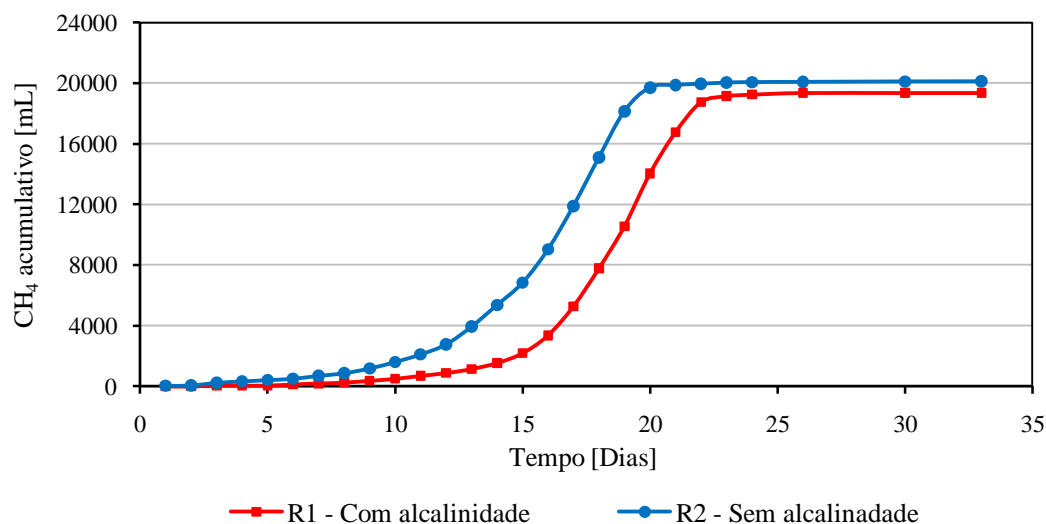
**Tabela 22** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 4 para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	[min]
<b>R1</b>	15	193	5	5	15	3
<b>R2</b>	15	193	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

#### Produção de metano

A quantidade de metano (CH<sub>4</sub>) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 23.

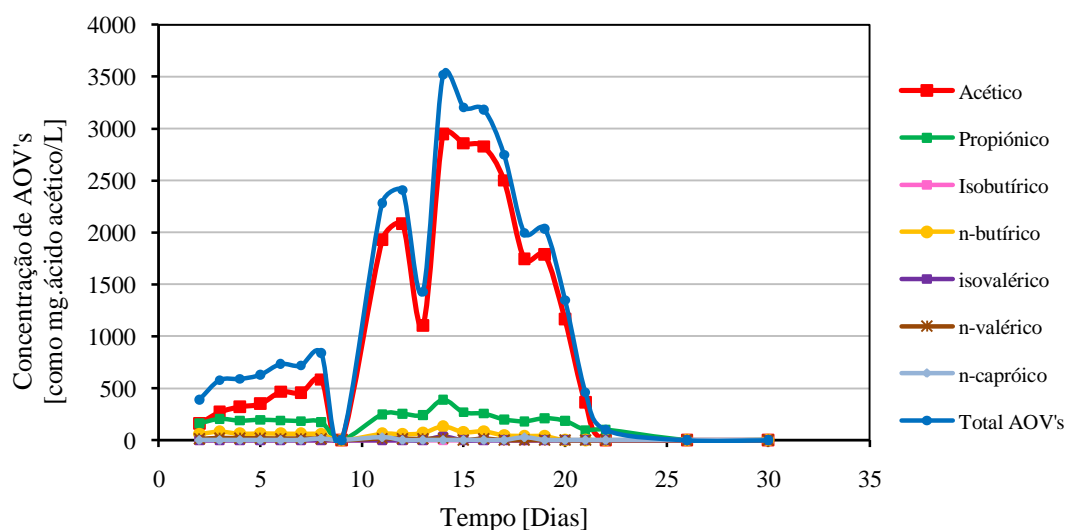


**Figura 23** - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e  $T=37^{\circ}\text{C}$ .

Da observação do gráfico da figura 23 verifica-se que o reactor R2 (sem alcalinidade) é o que apresenta maior produção de metano ao longo de todo o ensaio, evidenciando-se especialmente o período entre o 10º e o 22º dia. No fim do ensaio o reactor R2 apresenta uma produção de 20104 mL de metano e o reactor R1 (com alcalinidade) uma produção de 19349 mL de metano.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

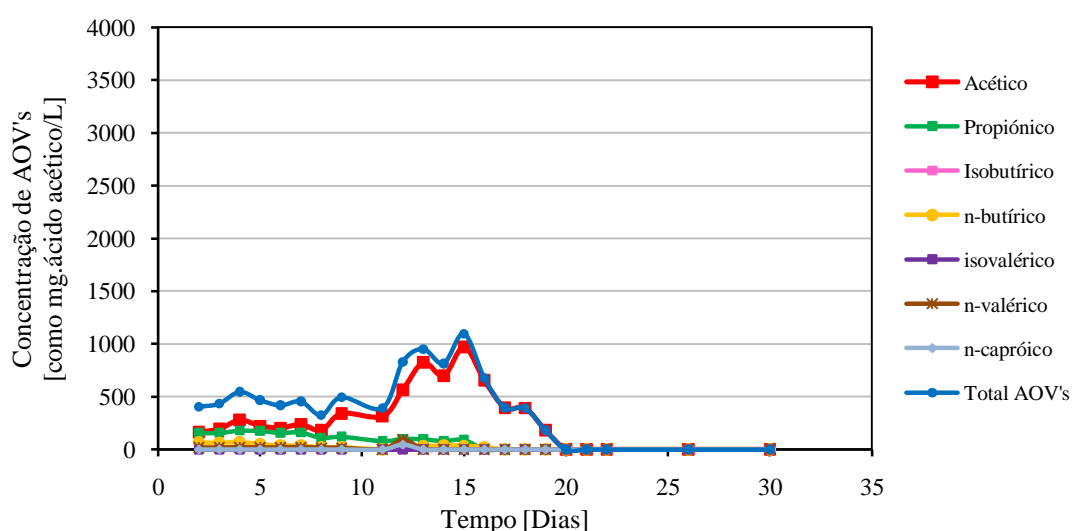
No gráfico da figura 24 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R1.



**Figura 24** - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e  $T=37^{\circ}\text{C}$ .

Pela análise no gráfico verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's, entre eles o ácido acético, o ácido propiónico e o ácido n-butírico. Ao longo de todo o ensaio apresentam uma concentração baixa, com a excepção do ácido acético que apresenta uma concentração elevada desde o 11º ao 20º dia, atingindo o máximo de 1426 mgAc/L no 13º dia. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 23519 mgAc/L também no 13º dia.

No gráfico da figura 25 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.



**Figura 25** - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 15gCQO/L e T=37°C.

Da observação do gráfico constata-se que no reactor R2 (sem alcalidade) apenas foram detectados alguns AOV's, entre eles o ácido acético, o ácido propiónico e o ácido n-butírico. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade, evidenciando-se desde 11º ao 18º dia, e atinge a seu máximo de concentração de 829 mgAc/L no 13º dia. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 1096 mgAc/L também no 13º dia,.

### 6.1.5 5ª ENSAIO

Este ensaio é realizado também á mesma temperatura que o anterior, 37°C, e é também aumentada a carga. São utilizadas as mesmas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características são apresentadas na tabela 23. As condições operacionais deste ensaio encontram-se na tabela 24.

**Tabela 23** – Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 5.

Parâmetro	Lamas de DAF			
	Sólidos [gSSV/L]	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	pH [-]
<b>Ensaio 5</b>	131,67	230,17	25,00	5,21

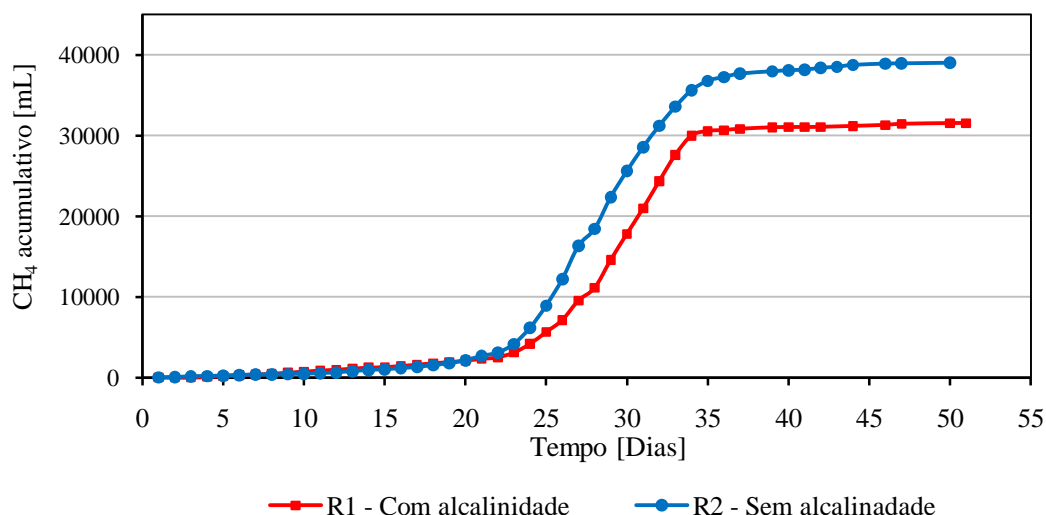
**Tabela 24** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 5 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	[min]
<b>R1</b>	30	652	5	5	15	3
<b>R2</b>	30	652	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

### Produção de metano

A quantidade de metano (CH<sub>4</sub>) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 26.

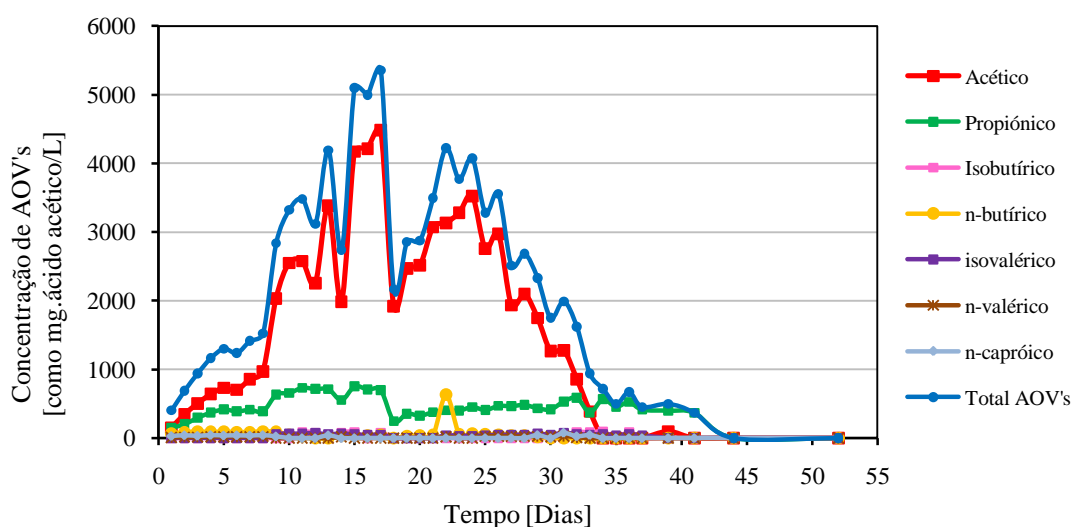


**Figura 26** - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$ .

Da observação do gráfico da figura 26 verifica-se que a produção de metano ao longo de todo o ensaio é superior no reator R2 (sem alcalinidade), evidenciando-se a partir do 24º dia. No fim do ensaio o reator R2 apresenta uma produção de 39020 mL de metano e o R1 (com alcalinidade) uma produção de 31530 mL de metano.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

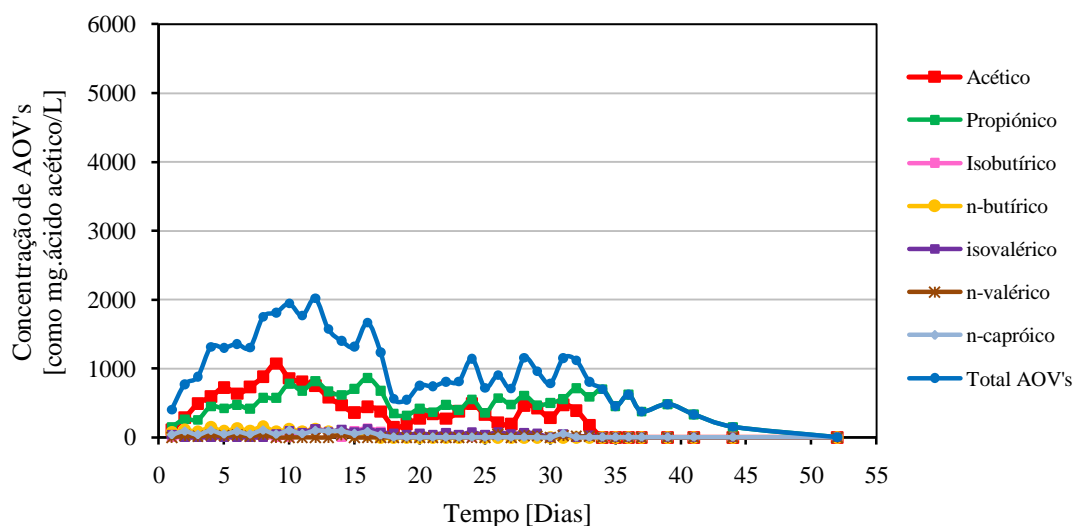
No gráfico da figura 27 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reator R1.



**Figura 27** - Concentração de AOV's no reator R1 (com alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$ .

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 800 mgAc/L. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio, em especial entre o 8º e o 33º dia. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 5356 mgAc/L no 17º dia.

No gráfico da figura 28 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.



**Figura 28** - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37^{\circ}\text{C}$ .

Pela análise do gráfico verifica-se que no reactor R2 (sem alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's, evidenciando-se o ácido acético e o ácido propiónico, que apresentam concentrações máximas de 1071mgAc/L e 890 mgAc/L, respectivamente. A concentração total de AOV's produzidos atingiu o máximo de 2017 mgAc/L no 12º dia.



## 6.2 RESULTADOS EXPERIMENTAIS DA GAMA TERMOFÍLICA

### 6.2.1 6º ENSAIO

Este ensaio é realizado a uma temperatura de 55°C, utilizando-se novas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características são apresentadas na tabela 25. Na tabela 26 encontram-se as condições operacionais deste ensaio.

Por necessidade de cumprir prazos, o fim deste ensaio teve de ser antecipado, não coincidindo com fim de produção de metano como anteriormente foi referido e verificado nos ensaios anteriores.

**Tabela 25** - Características das lamas DAF utilizadas no ensaio 6.

Parâmetro	Lamas de DAF			
	Sólidos [gSSV/L]	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	pH [-]
<b>Ensaio 6</b>	131,67	230,17	25,00	5,21

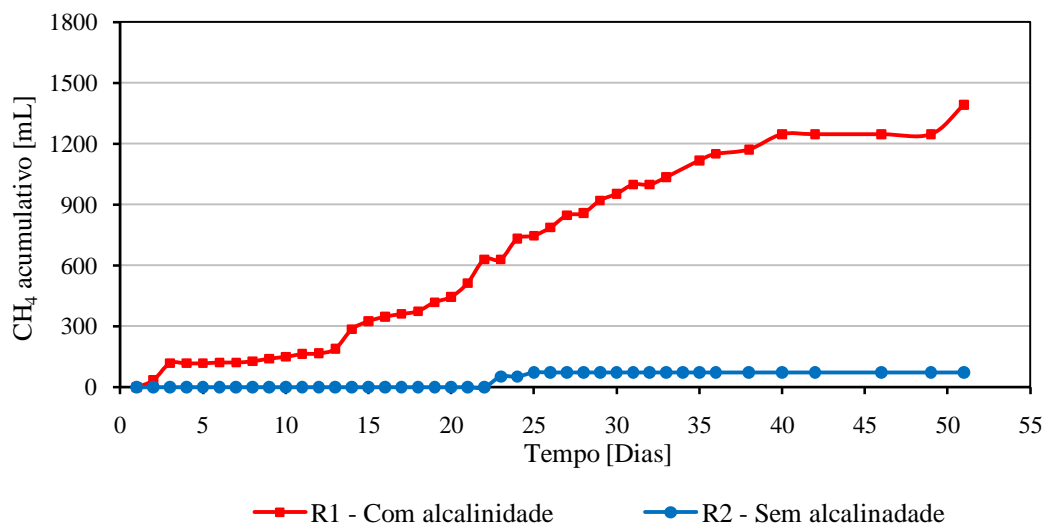
**Tabela 26** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 6 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	[min]
<b>R1</b>	10	217	5	5	15	3
<b>R2</b>	10	217	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

### Produção de metano

A quantidade de metano ( $\text{CH}_4$ ) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 29.

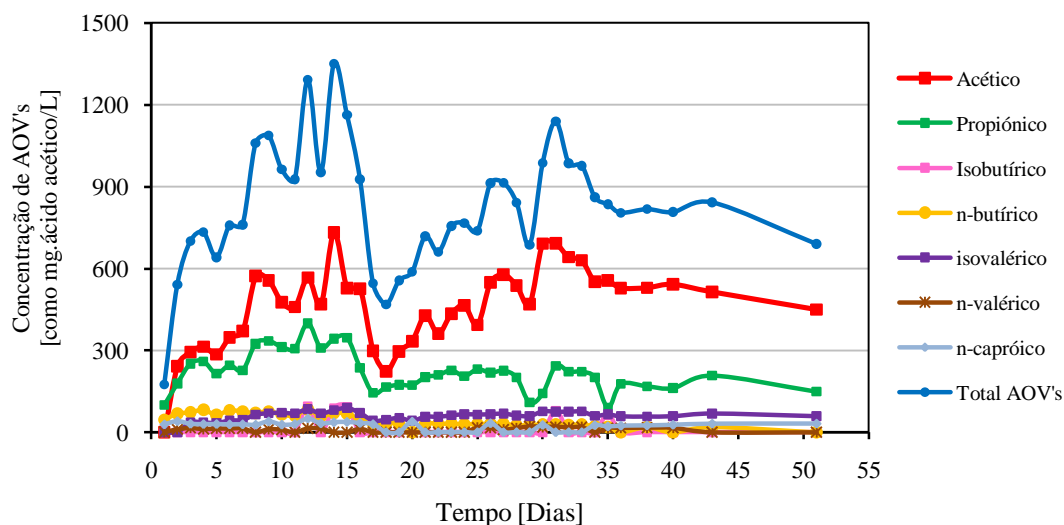


**Figura 29** - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

Da observação do gráfico da figura 29 verifica-se que o reactor R1 (com alcalinidade), apresenta produção de metano, tendo produzido 1391 mL de metano até ao momento em que o ensaio foi parado. O reactor R2 (sem alcalinidade) não apresenta produção de metano, tal insucesso pode ter origem numa fuga não foi identificada nem corrigida ao longo do ensaio.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

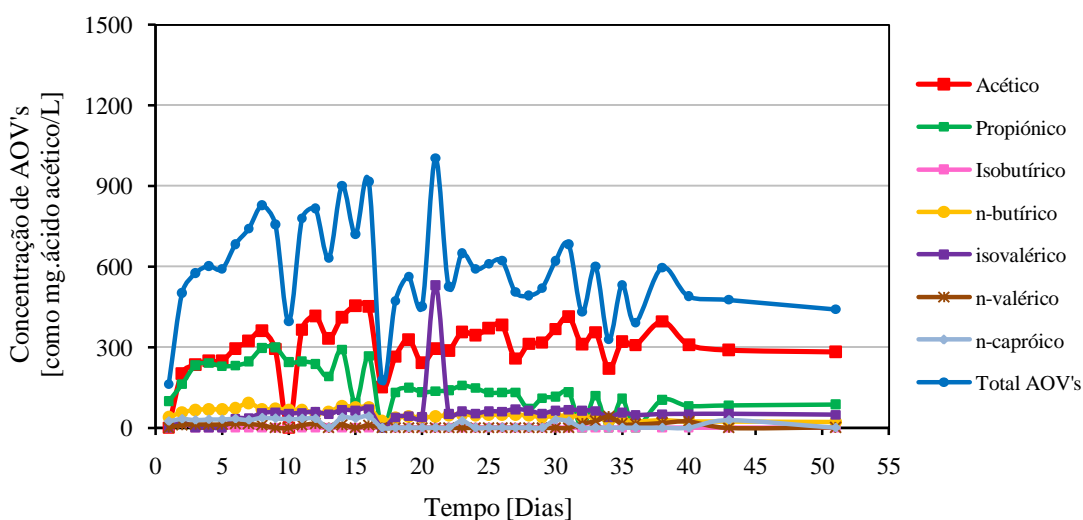
No gráfico da figura 30 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R1.



**Figura 30** - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

Pela análise no gráfico da figura anterior verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's, entre eles o ácido acético, o ácido propiónico, o ácido n-butírico, o ácido isovalérico e o ácido n-capróico. Ao longo de todo o ensaio apenas o ácido acético e propiónico apresentam uma concentração elevada, na ordem dos 750 mgAc/L e 400 mgAc/L respectivamente. A concentração total de ácidos produzidos atingiu o máximo de 1351 mgAc/L no 13º dia.

No gráfico da figura 31 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.



**Figura 31** - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

Da observação do gráfico da figura anterior constata-se que no reactor R2 (sem alcalinidade) também é possível identificar os sete tipos de AOV's, evidenciando-se o ácido acético e o propiónico. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade, com uma concentração máxima de 450 mgAc/L no 15º dia. A máxima concentração total de ácidos produzidos foi também atingida no 21º dia, 1003 mgAc/L.

### 6.2.1 7º ENSAIO

Este ensaio é igualmente realizado a uma temperatura de 55°C, utilizando-se novas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características são apresentadas na tabela 27. As condições operacionais deste ensaio encontram-se na tabela 28.

Igualmente, por necessidade de cumprir prazos, o fim deste ensaio teve de ser antecipado, não coincidindo com fim de produção de metano como anteriormente foi referido.

**Tabela 27** - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas no ensaio 7.

Parâmetro	Lamas de DAF				Lamas biológicas
	Sólidos [gSSV/L]	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	pH [-]	Sólidos [gSSV /L]
<b>Ensaio 7</b>	131,67	338,50	41,67	5,21	16,37

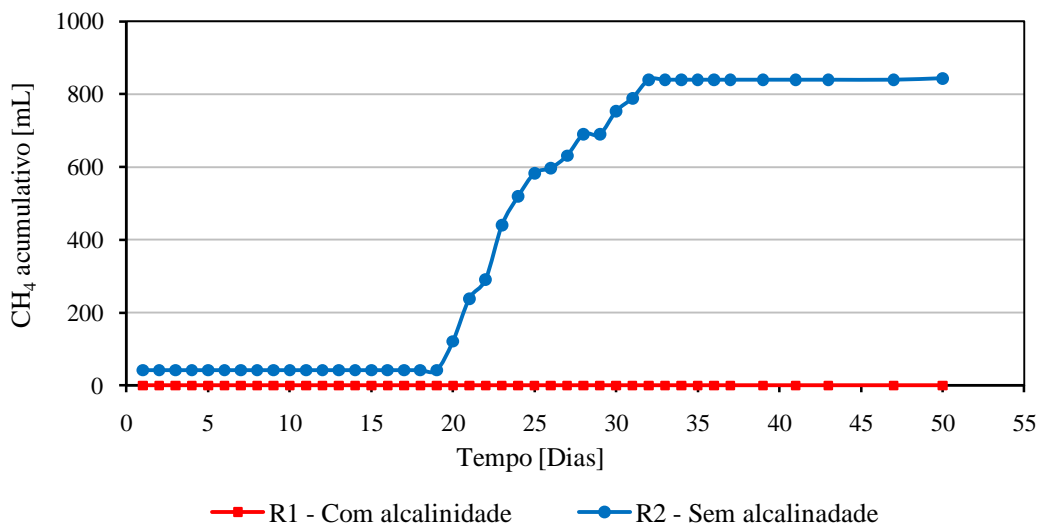
**Tabela 28** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio 7 para o reactor R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactores	Carga	Lamas biológicas	Lamas DAF	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto [min]
	[gCQO/L]	[mL]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> /L]	[gKHCO <sub>3</sub> /L]	[mL]	
<b>R1</b>	30	1527	443	5	5	15	3
<b>R2</b>	30	1527	443	0	0	15	3

Os resultados experimentais da evolução temporal de ambos os reactores são apresentados de seguida, analisando graficamente a produção de metano, a evolução temporal dos AOV's.

### Produção de metano

A quantidade de metano ( $\text{CH}_4$ ) produzida nos dois reactores encontra-se representada no gráfico da figura 32.



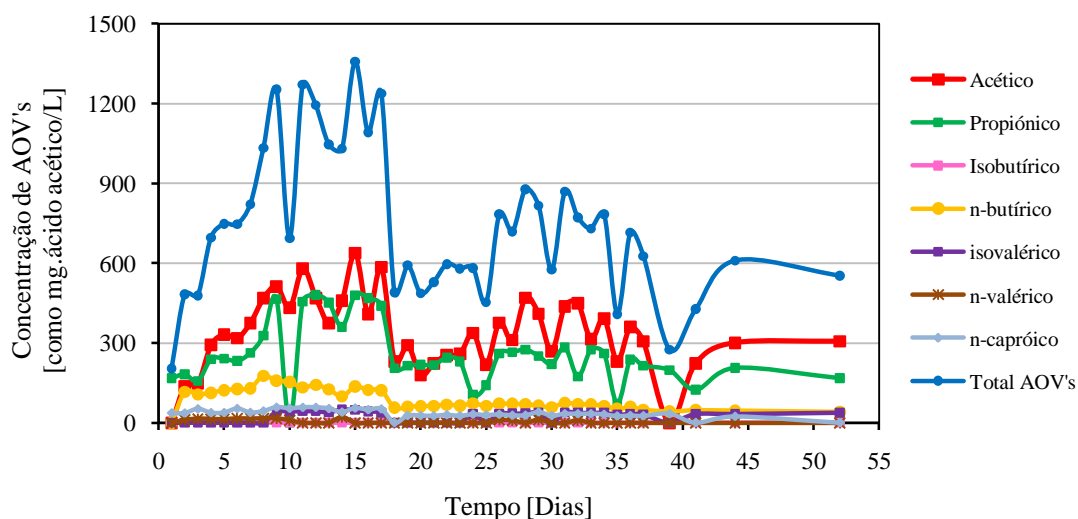
**Figura 32** - Produção acumulativa de metano para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

Da observação do gráfico da figura 32 verifica-se que o reactor R1 (com alcalinidade) não apresenta produção de metano e o reactor R2 (sem alcalinidade) apenas apresenta produção de metano a partir do 19º dia. Tal facto pode ter origem numa fuga não identificada, que no caso do reactor R2 foi corrigida no 19º dia, ao contrário do reactor R1 que nunca foi corrigida.

Após o 20º dia e até ao momento em que o ensaio foi parado, o reactor R2 produziu 843 mL de metano.

### Evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's)

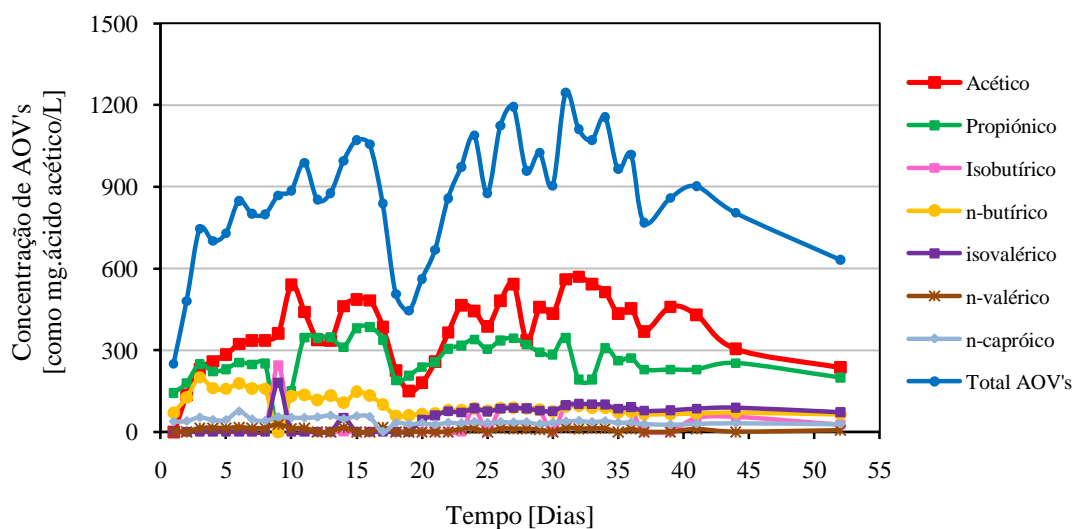
No gráfico da figura 33 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R1.



**Figura 33** - Concentração de AOV's no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

Da observação do gráfico constata-se que no reactor R1 (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOV's, entre eles, o ácido acético, o ácido propiónico, o ácido n-butírico e o ácido n-capróico. O ácido acético é identificado como sendo o AOV presente em maior quantidade. A concentração total de ácidos produzidos atingiu o máximo de 1358 mgAc/L no 15º dia.

No gráfico da figura 34 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOV's) correspondentes ao reactor R2.

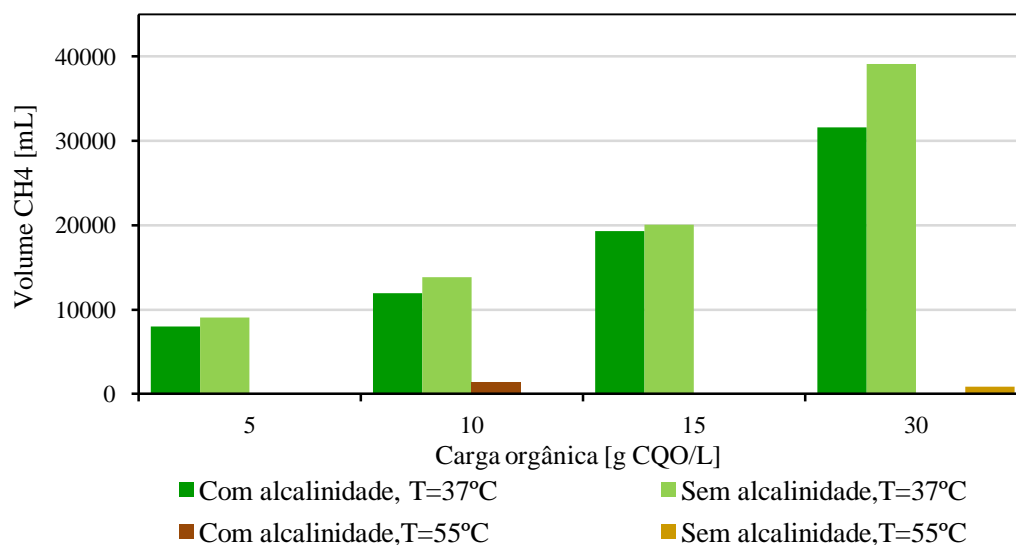


**Figura 34** - Concentração de AOV's no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55^{\circ}\text{C}$ .

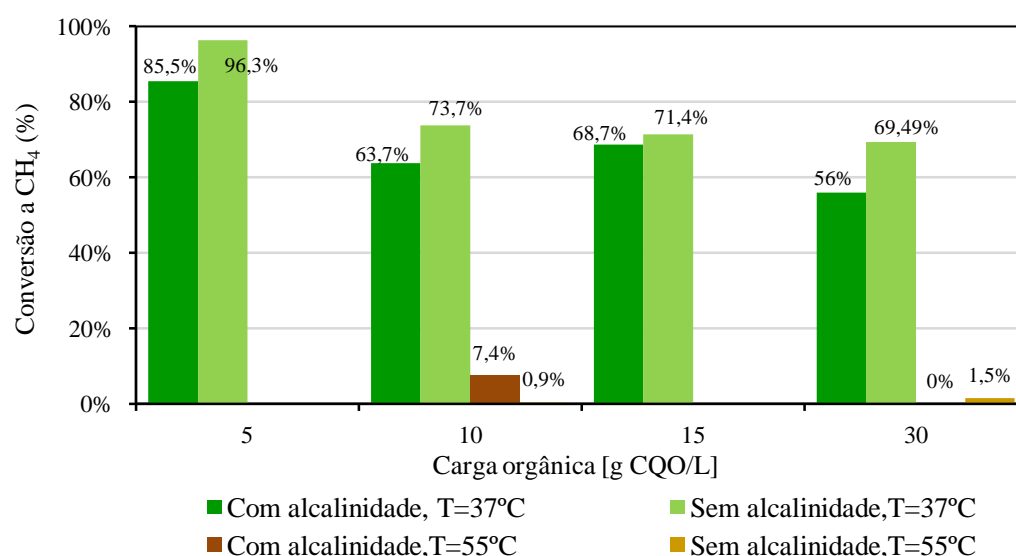
Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R2 (sem alcalinidade) foram detectados os sete tipos de AOV's (acético, propiónico, isobutírico, n-butírico, isovalérico, n-valérico e capróico). O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade. A concentração total de ácidos produzidos atingiu o máximo de 1245 mgAc/L no 31º dia.

### 6.3 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No gráfico da figura 35 apresenta-se a produção total de metano para ambos os reactores, em função das cargas orgânicas aplicadas para ambas as temperaturas. No gráfico da figura 36 são apresentados os valores de conversão de CQO a metano também para ambos os reactores, em função das cargas orgânicas aplicadas para ambas as temperaturas.



**Figura 35** – Produção total de metano no reactor R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C.



**Figura 36** – Conversão de CQO a metano para o reactor R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C.

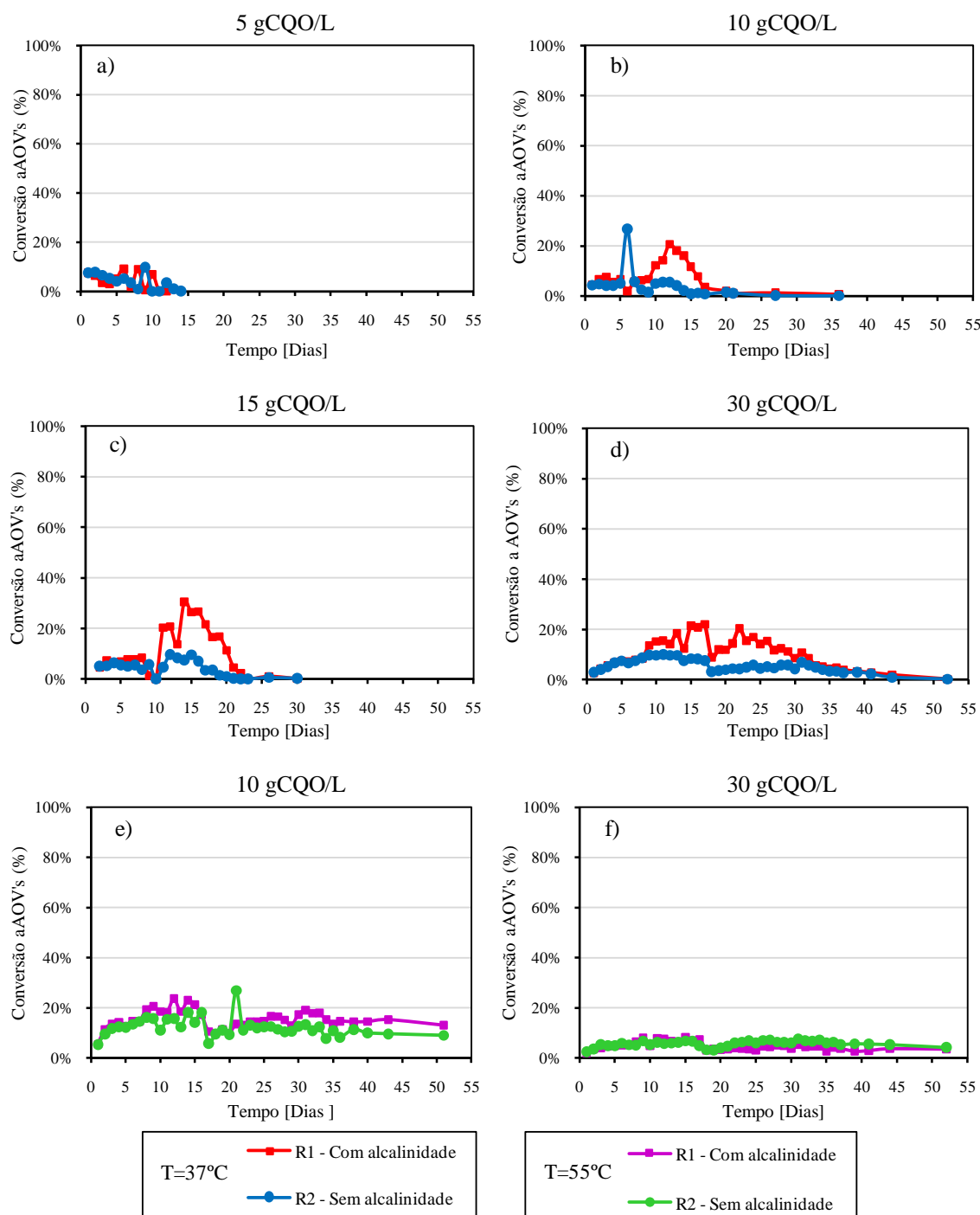


No gráfico da figura 35 observou-se que, à temperatura de 37°C, o volume de metano produzido pelos reactores é inferior a 32000 mL, excepto para o reactor sem alcalinidade quando foi aplicada a carga de 30 gCQO/L. Verificou-se que à medida que aumentou a carga orgânica aplicada a cada reactor, aumentou a quantidade de metano produzido, apresentando o reactor sem alcalinidade uma produção de metano sempre superior ao reactor com alcalinidade. Consequentemente, verifica-se uma menor conversão de CQO a metano à medida que se aumentou a carga orgânica, apresentando o reactor sem alcalinidade uma conversão superior ao reactor com alcalinidade, como é possível verificar no gráfico da figura 36. O reactor com alcalinidade apresenta uma conversão máxima de 85,5% para a carga 5 gCQO/L e mínima de 56%, para a carga de 30 gCQO/L. Para as mesmas cargas orgânicas, o reactor sem alcalinidade apresenta respectivamente uma conversão máxima de 96,3% e mínima de 56%.

Para a temperatura termofílica, 55°C, apenas será comentado o reactor com alcalinidade para a carga de 10 gCQO/L e o reactor sem alcalinidade para a carga de 30 gCQO/L, dado que nos outros dois reactores não foi possível contabilizar a produção de metano, como foi anteriormente referido. Deste modo, a esta temperatura verifica-se que para a carga de 10 gCQO/L, o reactor com alcalinidade apresenta uma produção de metano inferior quando comparado com o mesmo reactor, com a mesma carga à temperatura de 37°C. Este facto é também verificado para a conversão de CQO a metano, sendo essa diferença na ordem dos 56%. Por último e também para a temperatura de 55°C mas para a carga de 30 gCQO/L, o reactor sem alcalinidade também apresenta uma produção de metano muito inferior quando comparado com o mesmo reactor, com a mesma carga à temperatura de 37°C e o mesmo é verificado também para a conversão de CQO a metano, apresentando uma diferença de conversão na ordem dos 68%.

Relativamente à influência da alcalinidade na produção e conversão de metano, foi possível observar nos gráficos da figura 35 e figura 36 que, o reactor com alcalinidade apresenta sempre uma produção de metano inferior ao reactor sem alcalinidade.

Nos gráficos da figura 37, apresentam-se os valores de conversão de CQO a AOV's ao longo de cada ensaio, para ambos os reactores.

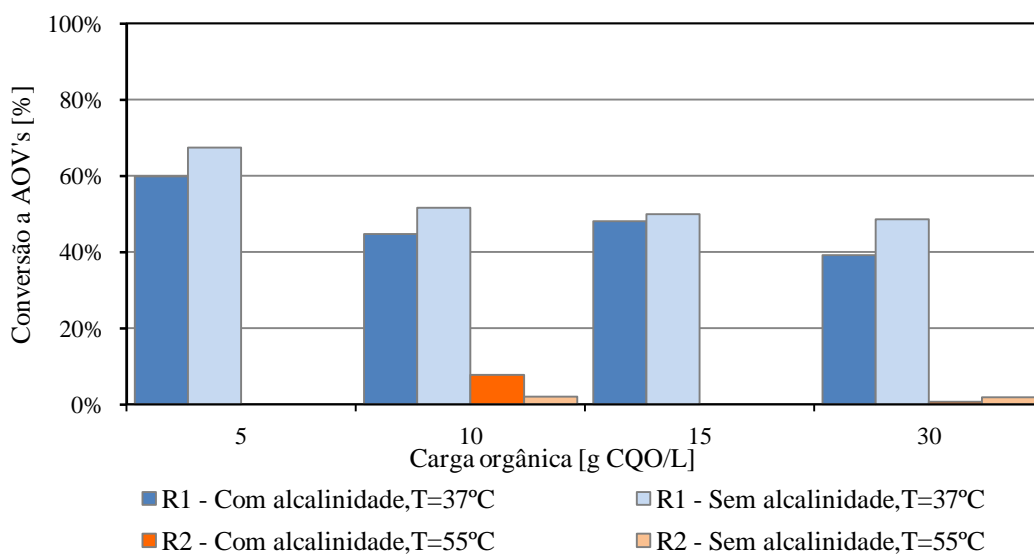


**Figura 37** – Conversão de CQO a AOV's ao longo de cada ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 37 e 55°C.

Dos gráficos da figura 37 observa-se que, para a temperatura de 37°C, a conversão de CQO a AOV's é baixa em todos os ensaios, ou seja, para todas as cargas orgânicas aplicadas. No entanto, verificou-se que essa conversão apesar de ser baixa, aumentou à medida que aumentou a carga orgânica aplicada a cada reactor, apresentando a carga de 15 gCQO/L a conversão mais elevada, na ordem dos 30% (gráfico c) da figura 37). Para a carga de 30 gCQO/L verifica-se uma conversão inferior, na ordem dos 20%, no entanto esta apresenta-se mais constante ao longo do ensaio (gráfico d) da figura 37). Para todas as cargas orgânicas aplicadas, verifica-se também um aumento inicial da conversão de CQO a AOV's que diminui no final do ensaio. Verifica-se ainda, que o reactor com alcalinidade apresenta sempre uma conversão superior ao reactor sem alcalinidade.

Para a temperatura termofílica, 55°C, observa-se que com o aumento da carga orgânica de 10 gCQO/L para 30 gCQO/L a conversão de CQO a AOV's diminui em ambos os reactores, verificando-se uma conversão de 20% para a carga de 10 gCQO/L, que se apresenta constante ao longo do ensaio e uma conversão nunca superior a 10% para a carga de 30 gCQO/L, gráfico e) e f) da figura 37. Para ambas as cargas orgânicas aplicadas a esta temperatura não é verificada a influência da alcalinidade.

No gráfico da figura 38 apresentam-se os valores de conversão global de CQO a AOV's no fim de cada ensaio em ambos os reactores em função das cargas orgânicas aplicadas para ambas as temperaturas.



**Figura 38** – Conversão global de CQO a AOV's no fim de cada ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C

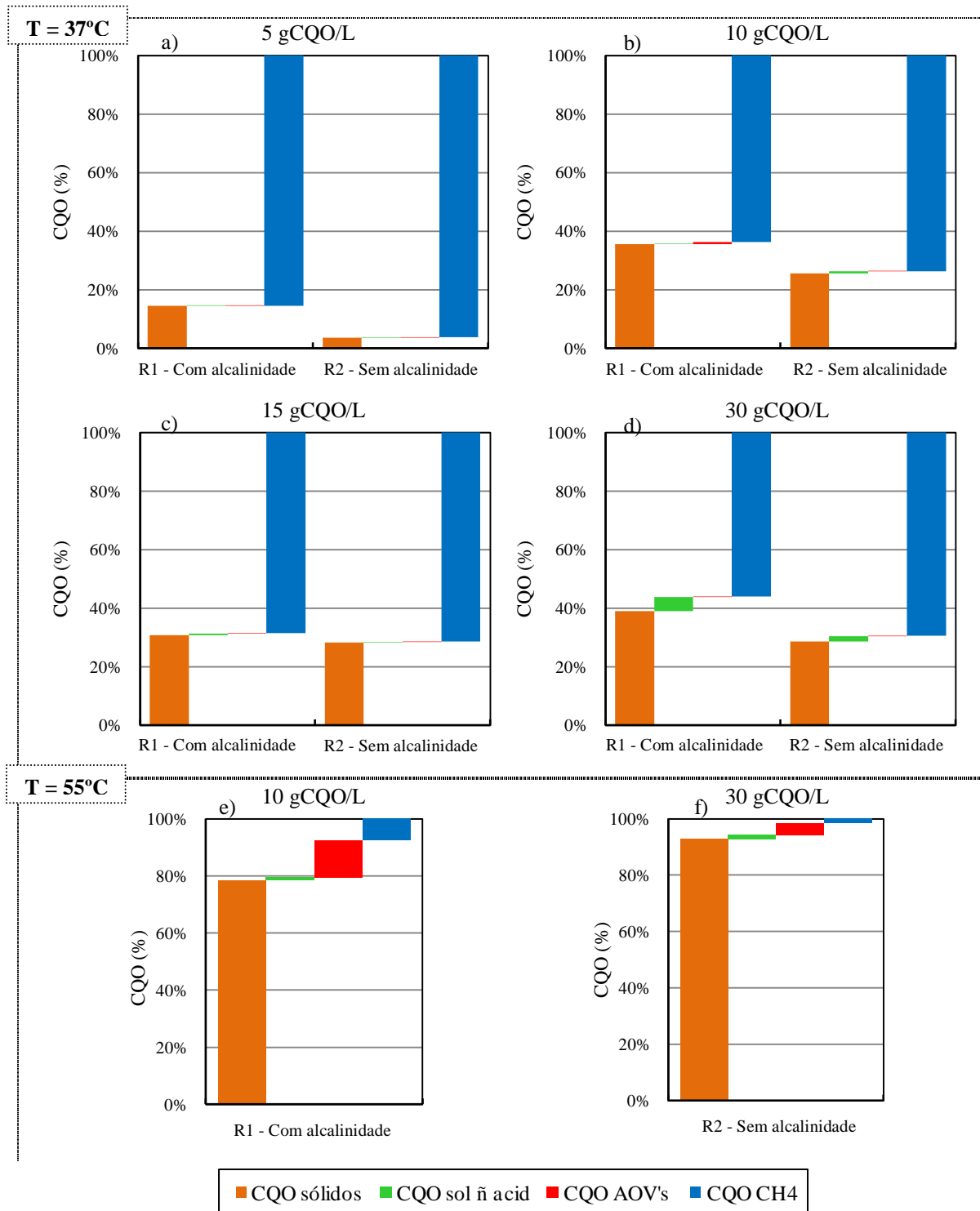
Esta conversão global de CQO a AOV's no final de cada ensaio é constituída pela percentagem de AOV's existentes no reactor nesse momento e pela percentagem de metano formado, dado que estes já se encontraram na forma de AOV's.

No gráfico da figura 38 observa-se que existe uma maior conversão global de CQO a AOV's para a temperatura mesofílica, 37°C. Essa conversão é sempre superior a 39%, apresentando o reactor sem alcalinidade com carga de 5 gCQO/L a conversão máxima na ordem dos 67%. Verificou-se que à medida que aumentou a carga orgânica aplicada ao reactor diminui a conversão global a AVO's, apresentando o reactor sem alcalinidade uma conversão global sempre superior ao reactor com alcalinidade. Verificando-se que a alcalinidade não promove a conversão de AOV's. É de referir que não se verifica uma adaptação dos microrganismos, dado que o aumento da carga orgânica de 10 gCQO/L para 15 gCQO/L e posteriormente para 30 gCQO/L pouca influência tem na conversão, que apesar de diminuir encontra-se na ordem dos 39% a 45%.

A conversão global de CQO a AOV, para a temperatura termofílica, 55°C, apenas será comentada para o reactor com alcalinidade e carga de 10 gCQO/L e para o reactor sem alcalinidade e carga de 30 gCQO/L, dado que nos outros dois reactores apenas se encontra representada a percentagem de AOV's, pois, como foi anteriormente referido, não foi possível contabilizar a produção de metano.

Deste modo, verificou-se que para esta temperatura, a diminuição da conversão global a AOV's com aumento da carga orgânica, sendo praticamente nula para o reactor sem alcalinidade com carga de 30 gCQO/L. Para a carga de 10 gCQO/L o reactor com alcalinidade apresenta uma conversão global de CQO a AOV's muito inferior quando comparado com o mesmo reactor, com a mesma carga e à temperatura de 37°C. No entanto não é possível concluir nada pois, como foi comentado anteriormente, grande parte desta conversão é a metano.

No gráfico da figura 39, apresenta-se a distribuição da massa de CQO alimentada pelos produtos da acidificação anaeróbia e pela incorporação na biomassa no final de cada ensaio em função de ambos os reactores.



**Figura 39** – Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para a carga orgânica aplicada paras as temperaturas de 37 e 55°C.

Na figura 39 verifica-se que, no fim de cada ensaio, a massa inicialmente alimentada aos reactores, encontra-se distribuída por duas fracções, incorporada na biomassa (CQOsólidos) e distribuída pelos produtos da acidificação anaeróbia, ou seja, transformada a metano, a AOV's e a outros produtos.

Para a temperatura de 37°C, dos quatro primeiros gráficos da figura 39 observou-se que, no final de cada ensaio, grande parte da massa inicialmente alimentada foi transformada a metano e que à medida que a carga orgânica aplicada a cada reactor aumentou, essa percentagem diminui, apresentando para a carga de 5 gCQO/L 96% da massa alimentada e para a carga de 30 gCQO/L 70%.

Verificou-se que existia sempre uma pequena percentagem da massa inicialmente alimentada que permanecia incorporada na biomassa e que essa percentagem aumentava com o aumento da carga orgânica aplicada a cada reactor, correspondendo a uma percentagem de 14% da massa alimentada para a carga mais baixa, 5 gCQO/L e 39% para a carga mais elevada, 30 gCQO/L.

Observou-se também a existência de uma fracção muito reduzida de massa inicialmente alimentada que foi transformada a AOV's e outra igualmente pequena que se encontrava associada a outros produtos da acidificação. A fracção transformada a AOV's apresentava valores na ordem 0,1% a 0,7% da massa alimentada e a fracção de massa alimentada que se encontrava associada a outros produtos da acidificação valores na ordem dos 0,1% a 4,9%. A percentagem da fracção de massa alimentada que foi transformada a AOV's e a que se encontrava associada a outros produtos da acidificação apresentam valores mais elevados para a carga de 30 gCQO/L.

Para esta temperatura e para as cargas orgânicas aplicadas não é verificada a influência da alcalinidade, apresentando ambos os reactores percentagens muito próximas para todas as fracções em que a massa inicialmente alimentada se pode distribuir.

Para a temperatura de 55°C, dos dois últimos gráficos da figura 39, verificou-se que, grande percentagem da massa inicialmente alimentada permaneceu incorporada na biomassa (CQOsólidos), correspondendo a uma percentagem de 78% da massa alimentada para o reactor com alcalinidade e carga de 5 gCQO/L e 93% para o reactor sem alcalinidade e carga de 30 gCQO/L. Uma das explicações para tal ocorrência é o facto de

ambos os ensaios terem sido parados antes do seu fim e a massa alimentada como ainda não tinha sido consumida encontrava-se incorporada na biomassa. Quanto à fracção que foi transformada em metano é muito inferior, tanto no reactor com alcalinidade e carga 10 gCQO/L como no reactor sem alcalinidade e carga 30 gCQO/L, quando comparados com os respectivos reactores e cargas à temperatura de 37°C, apresentando valores na ordem dos 7,4% e 1,5%, respectivamente. Para a fracção de massa alimentada que foi transformada a AOV's verifica-se o oposto, ou seja, ambos os reactores apresentam valores ligeiramente superiores, na ordem dos 13% e 4,1%, respectivamente. A percentagem de massa alimentada que se encontrava associada a outros produtos da acidificação continua a representar uma fracção muito pequena, na ordem dos 1,2% para reactor com alcalinidade e carga 10 gCQO/L e 1,6% para o reactor sem alcalinidade e carga 30 gCQO/L.

Para esta temperatura no que diz respeito à da alcalinidade, não se pode tirar conclusões pois para cada carga existe um reactor diferente.

## 7 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Este trabalho centrou-se no estudo do processo de fermentação acidogénica como pré-tratamento de lamas gordas de uma indústria de lacticínios com vista a produção de biopolímeros. O desenvolvimento deste trabalho deu principal importância à influência da alcalinidade, da temperatura e à carga orgânica aplicada no processo de acidificação anaeróbia.

Como principais conclusões do trabalho desenvolvido destacam-se as seguintes:

- Para as condições testadas, os parâmetros operacionais alcalinidade e carga orgânica apresentam pouca influência na produção de ácidos orgânicos voláteis totais (AOV's totais) à temperatura termofílica, no entanto à temperatura mesofílica essa influência já se torna relevante para ambos os parâmetros. O aumento da carga orgânica imposta a ambos os reactores beneficia a produção de AOV's, sendo mais perceptível para o reactor com alcalinidade. Esta constatação é também verificada no reactor alcalino, com o aumento da conversão de CQO a AOV's em cerca de 15% à medida que aumentou a carga orgânica.
- A temperatura é uma condição operatória que se reflecte na composição dos AOV's presentes no efluente acidificado. A gama termofílica apesar de apresentar menor produção de AOV's, favorece a presença do ácido isovalérico e n-butírico, neste caso como o 3º e 4º AOV em maior quantidade, em detrimento da sua ausência na gama mesofílica. Nas duas situações o ácido acético e o ácido propiónico são os ácidos predominantes, respectivamente como 1º e 2º AOV em maior quantidade.
- No fim de cada ensaio verifica-se que a massa de CQO inicialmente alimentada se distribui pelos produtos da acidificação anaeróbia e incorporada na biomassa. Essa distribuição é influenciada por todos os parâmetros operacionais, designadamente a temperatura, alcalinidade e carga orgânica aplicada a cada reactor.



- Para a temperatura mesofílica, com o aumento da carga orgânica (de 5 para 30 gCQO/L) verifica-se o aumento da percentagem de CQO alimentada incorporada na biomassa de 14% para 39%, concluindo-se que existe a inibição nas fases iniciais do processo de acidificação, respectivamente, a fase de hidrólise e acidogénese. Esta inibição é também verificada para a temperatura termofílica, com os baixos valores obtidos na fracção que foi transformada a AOV's, na ordem dos 4% e 13% e os elevados da fracção incorporada na biomassa de 78% e 93%.

Os resultados obtidos neste trabalho permitem confirmar que a fermentação acidogénica de lamas gordas tem potencialidade para a obtenção de AOV's e posterior produção de biopolímeros. Contudo, é ainda necessária a optimização deste processo.

Sugestões para trabalho futuro:

- Continuação dos estudos da fermentação acidogénica neste tipo de reactores biológicos, alterando as condições operatórias impostas até que estas sejam limitantes.
- Quantificação do grau de acidificação dos reactores acidogénicos contemplando os ácidos orgânicos voláteis que optimizam a produção de biopolímeros.
- Avaliação da influência do pH e da carga orgânica na fermentação acidogénica para elevadas temperaturas.
- Identificação de outros intermediários produzidos no processo de acidificação, para além dos ácidos voláteis, com vista a optimização deste processo como pré-pagamento do processo de produção de biopolímeros.

## Referências bibliográficas

- Afonso, E.D. (2006) Dossiê técnico - Desenvolvimento de produtos de plásticos biodegradáveis. Centro de educação profissional SENAI Nilo Bettanin.
- Agência Portuguesa do Ambiente (2007) Relatório do Estado do Ambiente 2006. Amadora, Edição Agência Portuguesa do Ambiente.
- Albuquerque, M.G.E., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B.R., Reis, M.A.M. (2007) Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. *Journal of Biotechnology*, 130, p.411–421.
- Aldor, I. S., Keasling, J. D. (2003) Process design for microbial plastic factories: metabolic engineering of polyhydroxyalkanoates. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, p.475–483.
- Alexiou I., Anderson G. K. (2001) Acidification reactors for the pre-treatment for high strength agro-industrial wastewaters. 9th World Congress of Anaerobic Digestion, 2-6 Setembro, Antuérpia, Bélgica.
- Alves, M.M., Mota, M.M., Novais, J.M. (1995) Técnicas de caracterização e estudo de digestores anaeróbios. *Boletim de Biotecnologia*, 52, p.25-39.
- Annachhatre A. (1996) Anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Resources, Conservation and Recycling*, 16, p.161-166.
- APHA (American Public Health Association) (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed, Washington DC, USA.
- Attal A., Ehlinger F., Audic J. M., Faup G. M. (1986) Anaerobic fermentation at low pH: glucose and intermediate products degradation kinetics. *Aquatech*. 86, 12, p.63-75.
- Averous, L. (2002) Etude de systèmes polymers multiphases: approche des relations matériaux-procédés-propriétés. Habilitation à diriger des recherches, Reims, Université de Reims, Champagne-Ardenne.
- Bastos, V. D. (2007) Bioplímeros e polímeros de matérias-primas renováveis alternativos aos petroquímicos. *Revista do bndes*, Rio de Janeiro, 14, p.201-234.
- Beal, L.L. (1995) Avaliação de processo anaeróbio em duas fases tratando efluente de curtume. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M., Welander, T. (2007) Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. *Bioresource Technology*, 99, p.509–516.

- Bhattacharyya J., Kumar S., Devotta S. (2008) Studies on acidification in two-phase biomethanation process of municipal solid waste. *Waste Management*, 28, p.164-169.
- Bonifácio, A.L.E., R.T. Costa, C.R.G. Tavares & R. Bergamasco (1998) Tratamento anaeróbio de efluentes líquidos em processo com separação física de fases. *Anais da II reunião nacional de microbiologia aplicada ao meioambiente*. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Borschiver, S., Almeida, L. F. M., Roitman, T. (2008) Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 18, 3, p.256-261.
- Carrondo, M.J.T., Reis, M.A.M. (1987) *Fixed Film Anaerobic Digestion in Global Bioconversions*, CRC Press, p.101-129.
- Chen Y., Cheng J., Creamer K. (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99, p.4044-4064.
- Chernicharo, C.A.L. (1997) *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Reatores anaeróbios*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. Volume 5, p.246.
- Choi, J. & Lee, S. Y. (1999) Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 51, p.13-21.
- Coutinho, B.C., Miranda, G.B., Sampaio, G.R., De Sousa, L.B.S., Santana, W.J. e Coutinho, H.D.M. (2004) A importância e as vantagens do polihidroxibutirato (plástico biodegradável). *Holos*, 20, p.76-8.
- Danalewich, J., Papagiannis, T. e Belyea, R. (1998) Characterization of dairy waste streams. Current treatment practices, and potential for biological nutrient removal. *Water Research*, 32, 12, p.3555-3568.
- Delée W., O'Neill C., Hawkes F., Pinheiro H. (1998) Anaerobic Treatment of Textile Effluents: a Review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 73, p.323-335.
- Demirel B., Yenigun O. (2002) Two-phase anaerobic digestion processes: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, p.743-755.
- Demirel B., Yenigun O., Onay. (2005) Anaerobic treatment of dairy wastewater: a review. *Process Biochemistry*, 40, p.2583-2595.
- Demirer G., Chen S. (2005) Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. *Process Biochemistry*, 40, p.3542-3549.

- Dionisi D., Carucci G., Papini M. P., Riccardi C., Majone M., Carrasco F. (2005) Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Research*, 39, p.2076-2084.
- Dionisi, D., Majone, M., Papa, V., Beccari, M. (2004) Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding. *Biotechnol. Bioeng.* 85, 6, p.569–579.
- Esgalhardo, H. e Rocha, A. (2002) Materiais plásticos para a construção civil Características e tipos de aplicações. Lisboa, Laboratório Nacional de engenharia civil.
- Fang H. H. P., Liu H. (2002) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture *Bioresource Technology*, 82, p.87-93.
- Fang H., Yu H. (2002) Mesophilic acidification of gelatinaceous wastewater. *Journal of Biotechnology*, 93, p.99-108.
- Fuentes M., Scenna N., Aguirre P.; Mussati M. (2008) Application of two anaerobic digestion models to biofilm systems. *Biochemical Engineering Journal*, 38, p.259-269.
- Gerardi, M.H. (2003) *The microbiology of anaerobic digesters*, John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Grobicki A. (1997) Design manual for anaerobic treatment of industrial effluent. WRc, Swindon.
- Grobicki, A. (1997) Design manual for anaerobic treatment of industrial effluent. WRc, Swindon.
- Guerrero L., Omil F., Mendez R., Lema J. (1999). Anaerobic hydrolysis and acidogenesis of wastewater from food industries with high content of organic solids and protein. *Water Research*, 33, 15, p.3281-3290.
- Guilbert, S. (2000) Potencial of the protein based biomaterials for the food industry. Food Biopack conference, Copenhagen. Copenhagen, Dinmark, 81-83.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. (1983) Conversion processes in anaerobic digestion, *Water Science and technology.*, 15, p.127-167.
- Henze M., Haremones P. (1983) Anaerobic treatment of wastewaters in fixed film reactors . a literature review. *Water Science Technology*, 15, p.1-101.
- Henze, M., Harremões, P. (1983) Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors - a literature review, *Water Science and Technology.*, 15, 1-101.
- Hirata, Y. S. (1997) Parâmetros de controle de processo. In: III Curso de Tratamento Biológico de Resíduos. Universidade Federal de Santa Catarina.

- Horiuchi J.-I., Shimizu T., Tada K., Kanno T., Kobayashi M. (2002) Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology*, 82, p.209-213.
- Hui, Y. (1992) *Encyclopedia of Food Science and Technology*, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- INE (2007) Estatísticas de recolha e transformação de leite, Instituto Nacional de Estatística, [www.ine.pt](http://www.ine.pt).
- Jensen, R. (1995) *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, London.
- Jeris, J., McCarty, P.L (1965) The biochemistry of methane fermentation using C14 tracers. *J. Wat Pollut. Control Fed.*, 37, 2, p.143-148.
- Katinka (1994) The role of homoacetogenic bacteria in anaerobic digestion. Internal Report, University College Galway Ireland.
- Katz, D. A. (1998) *Polymers*. Chemist, Science Communicator, and Consultant. USA.
- Kim M., Ahn Y., Speece R. E. (2002) Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion: mesophilic vs. thermophilic. *Water Research*, 36, p.4369-4385.
- Kirk-Othmer (1995) *Encyclopedia of chemical technology*, 4<sup>th</sup> Edition, Wiley Interscience.
- Kumar, M., Mudliar, S., Reddy, K. e Chakrabarti, T. (2004) Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial wastewater treatment plant. *Bioresource technology*, 95, p.327-330.
- Lawrence, A.A. (1971) Application of process kinetics to design of anaerobic processes. *Adv. Chem. Ser.*, 105, p.163-189.
- Lee, S. Y., Choi, J., Wong, H. H. (1999) Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation: mini-review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 25, p.31–36.
- Lee, S.Y. (1996) Bacterial polyhydroxyalkanoates - Review. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, p.1-14.
- Lema, J., Méndez, R., Iza., Garcia, P., Fernández-Polanco, F. (1991) Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes, *Water Science. Technology*, 24, 8, p.79-86.
- Lemos, P.C., Serafim, L.S., Reis, M.A.M., (2006) Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding. *J. Biotechnol.* 122, 2, p.226–238.

- Lenz, R. W., Marchessault, R. H. (2005) Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules*, 6, 1, p.1-8.
- Lucas, E. F., Soares, B. G. e Monteiro, E. E. C. (2001) Caracterização de polímeros: determinação do peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro, E-papers Serviços editoriais, Lda.
- Luvizetto, D. J., Gambetta, Luvizetto, D. J., Gambetta, R., Secchi, A. R., Cardozo, N. S. M., Rech, R., Ayub, M. A. Z. (2006) Produção do polímero Poly-(3-Hydroxybutyrato). Seminário do programa de pós-graduação em engenharia química, V-Oktober fórum – PPGEQ.
- Mah, R.A. e Sussman, C. (1968) Microbiology of anaerobic sludge fermentation. Enumeration of the non-methanogenic anaerobic bacteria. *Applied Microbiol.*, 16, 358.
- Martins, J. D. N., Zattera, A. J., Soares, M. R. F., Brandalise, R. N. (2004) Método para análise e caracterização das propriedades de misturas de polímeros reciclados com polímeros biodegradáveis. XIX Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia, Curitiba, Paraná.
- McCrum, N. G., Buckley, C. P. and Bucknall, C. B. (1999) Second edition, Principles of polymer engineering. New York, Oxford University Press Inc.
- Metcalf & Eddy (2003) Wastewater engineering. Treatment disposal and reuse. Civil engineering series -Third edition, McGraw-Hill International Editions.
- Nachaiyasit, S., Stuckey, D.C. (1995) Microbial response to environmental changes in an anaerobic baffled reactor (ABR). *Antonie van Leeuwenhoek*, 67, p.111-123.
- Nadais, H., (2002) Tratamento de Efluentes de Industrias de Lacticínios em reactores UASB com funcionamento intermitente. Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.
- Nadais, H., (2009) Comunicação pessoal. nadais@ua.pt.
- Nemerow, N. (1971) Liquid waste of industry, theories, practices & treatment. Addison-Wesley Publishing Company, Inc.
- Nysten, R. (1981) Les eaux résiduaires des laiteries. La technique de l'Eau et de l'Assainissement.
- O'Flaherty V., Collins G., Mahony T. (2006) The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 5, p.39-55.
- Ojumu, T.V., Yu, J. e Solomon, B.O. (2004) Production of Polyhydroxyalkanoates, a bacterial biodegradable polymer. *African Journal of Biotechnology*, 3, p.18-24.

- Parkin, G.F., Owen, W.F. (1986) Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges, J. Environ. Eng. Div. ASCE, 112, 5, p.867-919.
- Pereira M.A. (2003) Anaerobic biodegradation of long chain fatty acids - biomethanization of biomass-associated LCFA as a challenge for the anaerobic treatment of effluents with high lipid/LCFA content. Departamento de Engenharia
- Plastics Europe (2008) Página da Internet da PlasticsEurope, consultada em Outubro de 2009. <http://www.plasticseurope.org/Content/Default.asp>.
- Plastval (2009) Página da Internet da Plastval, consultada em Outubro de 2009. <http://www.plastval.pt>.
- Porto editora Multimédia (2002) Diciopédia 2003 O poder do conhecimento. [DVD-ROM]. Porto, Porto Editora, Lda.
- Pucal, A. (2000) Strategies for start-up, operation and control of anaerobic digesters. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Espanha.
- Rajeshwari K., Balakrishnan M., Kansal A., Lata K., Kishore V. (2000) State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 4, p.135-156.
- Reddy, C.S.K., Ghai, R., Rashmi, Kalia, V.C. (2003) Polyhydroxyalkanoates: an overview. Bioresource Technology, 87, 137–146.
- Ribeiro, N. (1999). Estudos dinâmicos do processo de digestão anaeróbia com vista ao desenvolvimento de um sistema inteligente de supervisão. Departamento de Engenharia Biológica – Universidade do Minho, Portugal.
- Rosa, D. S., Chui, Q. S. H., Filho, R. P., Agnelli, J. A. M. (2002) Avaliação da biodegradação de Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato), Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato – co-Valerato) e Poli- $\epsilon$ -Caprolactona) em solo compostado. Polímeros: Ciência e Tecnologia, 12, 4, p.311-317.
- Rosa, D. S., Franco, B. L. M., Calil, M. R. (2001) Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. Polímeros: Ciência e Tecnologia, 11, 2, p.82-88.
- Salmiati, Z., Ujang, M.R., Salim, M.F., Ahmad, M.A. (2007) Intracellular biopolymer productions using mixed microbial cultures from fermented POME. Water Science and Technology, 56, 8, p.179–185.
- Santos, R. e Martins, J.G. (2004) 1.<sup>a</sup> edição, Os plásticos na construção civil. Serie Materiais.

- Segura, D., Noguez, R. e Espín, G. (2007) Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*, 14, p.361-372.
- Serafim, L.S., Lemos, P.C., Oliveira, R.F., Reis, M.A.M., (2004) Optimization of polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions. *Biotechnol. Bioeng*, 87, p.145-160.
- Silva, L. F., Gomez J. G. C., Rocha, R. C. S., Taciro, M. K., Pradella, J. G. C. (2007) Produção biotecnológica de poli-hidroxialcanoatos para a geração de polímeros biodegradáveis no Brasil. *Quim. Nova*, 30, 7, p.1732-1743.
- Smith, R. (2005) *Biodegradable polymers for industrial applications*. New York, Woodhead publishing limited.
- Smith, W. F. (1998) 3.<sup>a</sup> edição, *Princípios de ciência e engenharia dos materiais*. Amadora, McGraw-Hill de Portugal, Lda.
- Solera R., Romero L., Sales D. (2002) The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up. *Chem. Biochem. Eng.*, 16, 1, p.25-29.
- Sousa, M., Azeredo, J., Feijó, J., Oliveira, R. (1997) Polymeric supports for the adhesion of a consortium of autotrophic nitrifying bacteria. *Biotechnol. Tech.*, 11, 10, p.751-754.
- Speece R. E., McCarthy P. L. (1964) Nutrient requirements and biological solids accumulation in anaerobic digestion. *Advances in Water Pollution Research*, 2, p.305-322.
- Squio, C. e Aragão, G. (2004) Estratégias de cultivo para a produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-hidroxibutirato) e poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) por bactérias. *Quim.Nova*, 27, 4, p.615-622.
- Steinbuechel, A. (2005) Non-biodegradable biopolymers from renewable resources: perspectives and impacts. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, p.607–613.
- Talbot, R. (1992) Optimizing dairy wastewater treatment using biological equalization. *Proc. 1992 Food Industry Environmental Conference*, p.403-410.
- Toerien, D.F., Thiele, P.G., Pretorius, W.A. (1970) Substrate flow in anaerobic digestion, 5th International Conference on Water Pollution Research. San Francisco, CA. USA.
- Totzke, D. (1992) Anaerobic treatment in the dairy industry. *Proc. 1992 Food Industry Environmental Conference*, p.3–16.
- Van Haandel, A.C., Lettinga, G. (1994) *Anaerobic Sewage Treatment – A practical guide for regions with a hot climate*, John Wiley & Sons, UK.



- Veysseyre, R. (1988) *Lactologia Tecnica, Composicion, Recogida, Tratamiento y Tranformacion de la Leche*. Acribia, Zaragoza.
- Wahaab R., El-Awady M. (1999) Anaerobic/aerobic treatment of meat processing wastewater. *The Environmentalist*, 19, p.61-65.
- Wang A., Ren N., Wang X., Duujong L. (2007) Enhanced sulphate reduction with acidogenic sulphate-reducing bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, doi:10.1016/j.jhazmat.2007.11.022.
- Wang L., Zhou Q., Li F. T. (2006) Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production. *Biomass & Bioenergy*, 30, p.177-182.
- Yang K., Yu Y., Hwang S. (2003) Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation. *Water Research*, 37, p.2467-2477.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2002) Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. *Water Science and Technology*, 45, 10, p.201-206.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2003) Acidogenesis of gelatine-rich wastewater an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. *Water Research*, 37, p.55-66.
- Yu H. Q., Fang H. H. P., Gu, G. (2002) Comparative performance of mesophilic and thermophilic acidogenic upflow reactors. *Process Biochemistry*, 38, p.447-454.
- Zeikus, J.G. (1980) Microbial populations in digesters. In: *Anaerobic Digestion*. D.A. Stafford, B.I. Wheatley and D.E. Hughes (eds.), Applied Science Publishers, London, p.61-89.
- Zoetemeyer R. J, Van den Heuvel J. C., Cohen A. (1982) pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Research*, 16, p.303-311.

Sites visitados:

<http://www.apambiente.pt>

<http://www.naturlink.pt/>

# ANEXOS

## **Anexo I – Classificação dos polímeros**

### **Classificação quanto à formação**

A reacção química para obtenção dos polímeros denomina-se por polimerização, que consiste numa reacção em que moléculas menores, os monómeros, se combinam quimicamente para formar moléculas longas, mais ou menos ramificadas (Porto editora multimédia, 2002).

Segundo Wallace Carothers<sup>6</sup>, e de acordo com a composição ou estrutura dos polímeros, existem dois tipos de polimerização, a polimerização por adição (ou poliadição) em cadeia e por condensação (ou policondensação) (Porto editora Multimédia ,2002).

A polimerização em cadeia é um tipo de reacção em que as moléculas de monómeros se ligam entre si sem qualquer modificação da sua composição e caracteriza-se fundamentalmente por possuir três fases, iniciação, propagação e finalização (Smith, 1998).

A polimerização por condensação é um tipo de reacção em que duas ou mais moléculas de monómeros, que podem ser idênticas ou diferentes, reagem entre si, com eliminação de pequenas moléculas (Smith, 1998).

Esta classificação foi aperfeiçoada por Paul Flory em 1953, utilizando o critério do mecanismo de reacção compreendido pela polimerização.

### **Classificação quanto à estrutura molecular.**

No que diz respeito à estrutura moléculas os polímeros podem se apresentar com uma estrutura linear, ramificada e em rede (ou reticulada). A Tabela 29 apresenta a classificação dos polímeros quanto à sua estrutura molecular. Neste caso, a molécula do polímero é representada como um fio que se assemelha à forma de um esparguete.






Em relação ao polímero do tipo ramificado, é importante destacar que este termo não se refere a polímeros lineares contendo grupos laterais que fazem parte da estrutura do monómero. Apenas aqueles que contenham pelo menos uma unidade minomérica completa”pendurada” na cadeia principal são denominados polímeros ramificados.

Em relação ao polímero em rede, a sua estrutura tridimensional é rígida e irregular. Aos segmentos que unem duas cadeias principais são denominados ligações cruzadas.

---

<sup>6</sup> Química norte americano (1896-1937), foi pioneiro no desenvolvimento comercial de polímeros, tendo produzido a borracha sintética, o neopreno, e o nylon. Sintetizou muitos polímeros condensados, especialmente poliésteres, poliéteres e uma poliamida (Porto editora multimédia,2002).

**Tabela 29** – Classificação de polímeros quanto à estrutura molecular (Lucas et al, 2001.)

Arquitectura da molécula	Designação do polímero	Definição
	Linear	Formado pelas ligações dos monómeros num comprimento contínuo.
	Ramificado tipo A	Arquitectura tipo pente, com ramificações longas.
	Ramificado tipo B	Arquitectura tipo pente, com ramificações curtas.
	Ramificado tipo C	Arquitectura tipo pente, com ramificações que por sua vez também apresentam ramificações.
	Em rede	Estruturas com cadeias poliméricas que se encontram ligadas entre si, formando uma rede.

### Classificação quanto à morfologia no estado sólido

A cristalinidade é outra característica estrutural que influencia as características mecânicas dos polímeros. No estado sólido os polímeros apresentam dois tipos de morfologia: o amorfo e o semicristalino (Smith, 1998).

Um estado cristalino é caracterizado pela ordenação das moléculas, ou de segmentos de uma mesma molécula. Nos polímeros as cadeias moleculares encontram-se orientadas aleatoriamente e entrelaçadas, facilitando assim o amorfismo. Quanto maior for o comprimento dessas cadeias maior são os fenômenos de enrolamento, dobragem e entrelaçamento, originando uma certa desordem. Esta desordem das moléculas significa estrutura amorfa. Os polímeros amorfos geralmente são constituídos por moléculas assimétricas e por isso têm menor tendência de se empilharem ou de se disporem paralelamente. Por exemplo, um polímero linear tem mais facilidade em cristalizar que um polímero de mesma natureza mas de estrutura ramificada (Smith, 1998).

No entanto nem todos os polímeros são amorfos, existem os que possuem zonas em que as cadeias se encontram orientadas entre si e embora imersas numa massa amorfa possuem alguma cristalinidade. Estes tipos de polímeros denominam-se semicristalinos ou parcialmente cristalinos (Smith, 1998). Estes polímeros caracterizam-se por serem mais duros e resistentes, por possuírem fortes interações intermoleculares e mais opacos que os polímeros amorfos, que normalmente são transparentes, devido às características intrínsecas de regiões cristalinas que espalham a luz. O aparecimento destas regiões cristalinas pode, ainda, ser induzido por um “esticamento” das fibras, no sentido de alinhar as moléculas.

## Anexo II – Conversão de CH<sub>4</sub> em CQO

Para a conversão de CH<sub>4</sub> em CQO foi adoptado o seguinte procedimento de cálculo.

Assumindo que o CH<sub>4</sub> se comporta como um gás perfeito no espaço por ele ocupado no reactor e sem ter em consideração a pressão de vapor de água.

$$P \times V = n \times R \times T \quad (1)$$

Sendo:  $P = 1 \text{ atm}$

$$V = 1 \text{ L CH}_4$$

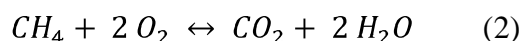
$$R = 0,08205 \text{ L.atm/K.mol}$$

$$T = 20^\circ\text{C} = 293,15 \text{ K}$$

$n$  - número de moles que ocupam um volume  $V$ , à pressão  $P$  e temperatura  $T$ .

Vem da equação (1) que  $n = 0,041575$  moles de CH<sub>4</sub>.

Tendo em conta a equação (2),



Sabe-se que 1 mol de CH<sub>4</sub> corresponde a um CQO de 64 g.

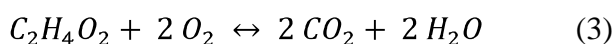
Então 0,041575 moles de CH<sub>4</sub> corresponde a um CQO de  $2,660795 \text{ gCQO/LCH}_4$ .

Ou então  $0,375827 \text{ LCH}_4/\text{gCQO}$ .

## Anexo III – Conversão dos AOV's em CQO

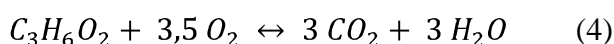
Para a conversão de cada AOV em CQO foi adoptado o seguinte procedimento.

### Ácido acético



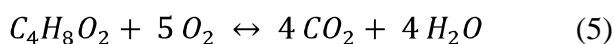
Da equação (3) vem que 1 mol de ác. acético corresponde a um CQO de 64 g.

### Ácido propiónico



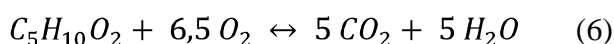
Da equação (4) vem que 1 mol de ác. propiónico corresponde a um CQO de 112 g.

### Ácido isobutírico e ácido N-butírico



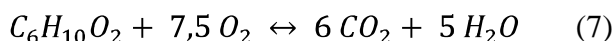
Da equação (5) vem que 1 mol de ác. isobutírico e 1 mol de ác. N-butírico corresponde cada uma a um CQO de 160 g.

### Ácido Isovalérico e ácido N-valérico



Da equação (6) vem que 1 mol de ác. isovalérico e 1 mol de ác. N-valérico corresponde cada uma a um CQO de 208 g.

### Ácido N-capróico



Da equação (7) vem que 1 mol de ác. N-capróico corresponde a um CQO de 240 g.

Na tabela 30 encontra-se o resumo de toda a informação para a conversão dos AOV's em CQO.

**Tabela 30** – Tabela resumo da conversão dos AOV's em CQO.

Ácido orgânico volátil	Fórmula química	Massa molar [g/mol]	g de CQO
Acético	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60	64
Propiónico	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	74	112
Isobutírico	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88	160
n-butírico	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88	160
isovalérico	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	102	208
n-valérico	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	102	208
n-capróico	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	114	240